

**EFEKTIVITAS *Spirulina platensis* PADA PAKAN BUATAN TERHADAP
HEMOSIT UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
*Vibrio harveyi***

SKRIPSI

Oleh:

**CILIA HENGTYA GHOWINA
NIM. 145080500111025**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAGEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**EFEKTIVITAS *Spirulina platensis* PADA PAKAN BUATAN TERHADAP
HEMOSIT UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
*Vibrio harveyi***

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

**CILIA HENGTYA GHOWINA
NIM. 145080500111025**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAGEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
MEI, 2018**

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS *Spirulina platensis* PADA PAKAN BUATAN TERHADAP
HEMOSIT UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
*Vibrio harveyi***

Oleh :

CILIA HENGTYA GHOWINA
NIM. 145080500111025

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 23 Mei 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Pembimbing 1



Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal: 25 JUN 2018

Menyetujui,
Pembimbing 2



Dr. Drs. Arief Taslihan, MSi.
NIP. 19601106 198903 1 003
Tanggal: 25 JUN 2018

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. M. Firdaus, MP.
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 25 JUN 2018

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **EFEKTIVITAS *Spirulina platensis* PADA PAKAN BUATAN TERHADAP HEMOSIT UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI *Vibrio harveyi***

Nama Mahasiswa : Cilia Hengtya Ghowina

NIM : 145080500111025

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.

Pembimbing 2 : Dr. Drs. Arief Taslihan, MSi.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : Ir. Heny Suprastyani, MS.

Dosen Penguji 2 : Muhammad Fakhri, SPi., MP., MSc.

Tanggal Ujian : 23 Mei 2018

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan kemudahan dan perlindungan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Papi, mami, Taqueina, Michaeli, oma, opa, bu poh Yusna dan keluarga besar lainnya yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.
3. Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS. selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
4. Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP. selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
5. Dr. Ir. M. Fadjar, MSc. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.
6. Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. dan Dr. Drs. Arief Taslihan, MSi. selaku pembimbing yang telah memberikan arahan dan membimbing dalam menyelesaikan rangkaian penelitian.
7. Sugeng Rahardjo, API. selaku kepala BBPBAP, serta Damang Suryanto, S St Pi., MP., seluruh pegawai laboratorium manajemen kesehatan akuatik, laboratorium pakan alami, pakan buatan, laboratorium residu dan lingkungan, serta laboratorium fisika kimia dan lingkungan di BBPBAP Jepara.
8. Bunga Sadiyah dan Siska Wahyuningtyas selaku rekan penelitian yang saling melengkapi, mendukung, menolong, serta mengarahkan.
9. Salaudin Ramadhan Djarod selaku rekan penelitian di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yang membantu dan mengarahkan selama kegiatan penelitian berlangsung.

RINGKASAN

CILIA HENGTYA GHOWINA. Efektivitas *Spirulina platensis* pada Pakan Buatan terhadap Jumlah Total Hemosit Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi* (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS.** dan **Dr. Drs. Arief Taslihan, MSi.**).

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) memiliki nilai ekonomis yang penting, sehingga produksi meningkat untuk memenuhi kebutuhan. Peningkatan produksi udang vaname mampu memicu kualitas perairan menurun. Kondisi kualitas perairan menurun menyebabkan munculnya berbagai jenis penyakit pada udang, sehingga diperlukan manajemen kesehatan yang tepat untuk meningkatkan daya tahan tubuh udang. Penggunaan bahan alami seperti *Spirulina platensis* dengan kandungan nutrisi yang baik dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan. *Spirulina platensis* di alam melimpah dan dapat dibudidayakan, sehingga dapat tersedia secara berkelanjutan. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh *Spirulina platensis* pada pakan buatan terhadap jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis udang vaname yang diinfeksi *Vibrio harveyi*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Manajemen Kesehatan Akuatik di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu perlakuan A (substitusi protein *Spirulina platensis* 0% terhadap protein tepung ikan), B (substitusi protein *Spirulina platensis* 2,5% terhadap protein tepung ikan), C (substitusi protein *Spirulina platensis* 5% terhadap protein tepung ikan) dan D (substitusi protein *Spirulina platensis* 7,5% terhadap protein tepung ikan). Pakan uji dibuat dengan protein 35% dan iso energi 3,4 kkal.

Hewan uji yang digunakan adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan berat Rerata $4,55 \pm 0,07$ gram/ekor. Masing-masing akuarium diisi udang vaname dengan kepadatan 13 ekor setiap akuarium. Pemberian pakan selama penelitian dilakukan sebanyak tiga kali perhari dengan lama pemeliharaan 30 hari. Jumlah pemberian pakan dengan 5% dari jumlah biomassa. Perkiraan pergantian air $\pm 80\%$ setiap hari setelah diaplikasikan. Jumlah total hemosit dan total hemosit diferensial diamati setiap 10 hari, sedangkan aktivitas fagositosis dilakukan pada akhir pemeliharaan sebelum diinfeksi atau hari ke 30. Jumlah total hemosit dan total hemosit diferensial diamati juga setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi*.

Hasil pengamatan setelah 30 hari berpengaruh sangat nyata pada sel hyalin, sel granular, aktivitas fagositosis, akan tetapi tidak berpengaruh nyata pada jumlah total hemosit dan sel semi granular. Hasil pasca infeksi 48 jam dengan *Vibrio harveyi* menunjukkan bahwa tidak berpengaruh nyata terhadap sel semi granular, berpengaruh nyata terhadap sel granular, serta berpengaruh sangat nyata terhadap sel hyalin dan jumlah total hemosit. Hasil pengamatan setelah 30 hari menunjukkan nilai rerata tertinggi setiap perlakuan pada dosis terbaik; 7,5% pada jumlah total hemosit $41,65 \times 10^6$ sel/ml, 7,5% pada sel granular 47%, dan 7,5% pada aktivitas fagositosis 46%. Hasil pasca infeksi 48 jam dengan *Vibrio harveyi* menunjukkan dosis terbaik 7,5% pada jumlah total hemosit $32,18 \times 10^6$ sel/ml dan 7,5% pada sel granular 67,67%. Pada penelitian ini belum ditemukan dosis yang optimal untuk substitusi tepung ikan menggunakan *Spirulina platensis* pada udang vaname, sehingga perlu dilakukan

penelitian lanjutan menggunakan dosis yang berbeda untuk mengetahui dosis optimal.

KATA PENGANTAR

Penulis menyajikan penelitian berjudul “Efektivitas *Spirulina platensis* pada Pakan Buatan terhadap Hemosit Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi *Vibrio harveyi*” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya di bawah bimbingan Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS. dan Dr. Drs. Arief Taslihan, MSi. Manajemen produksi yang tepat perlu dilakukan untuk menangani permasalahan penyakit yang bersifat infeksius antara lain melalui manajemen kesehatan. Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat dijadikan informasi bagi pembudidaya dan masyarakat umum, khususnya budidaya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

Malang, Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan	4
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Siklus Hidup	7
2.1.4 Nutrisi dan Pertumbuhan	8
2.1.5 Manajemen Kesehatan	13
2.1.6 Sistem Pertahanan Udang	15
2.2 <i>Vibrio harveyi</i>	18
2.2.1 Klasifikasi	18
2.2.2 Sistem Penyerangan pada Udang Vaname	19
2.2.3 Gejala Udang Vaname terinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	20
2.3 <i>Spirulina platensis</i>	20
2.3.1 Klasifikasi	20
2.3.2 Morfologi	21
2.3.3 Habitat dan Siklus Hidup	22
2.3.4 Komposisi Kimia	24
2.3.5 Lipopolisakarida	25
2.4 Bahan Penyusun Pakan	27
2.4.1 Tepung Ikan	27
2.4.2 Tepung Bungkil Kedelai	27
2.4.3 Tepung <i>Spirulina</i>	28
2.4.4 Minyak Ikan	28
2.4.5 Vitamin <i>mix</i>	28
2.4.6 Bahan Perekat	29
3. METODE PENELITIAN	30
3.1 Materi Penelitian	30

3.1.1 Alat Penelitian.....	30
3.1.2 Bahan Penelitian.....	30
3.2 Metode Penelitian.....	31
3.3 Pengambilan Data.....	31
3.4 Rancangan Penelitian	31
3.5 Prosedur Penelitian	32
3.5.1 Pembuatan Pakan Uji	32
3.5.2 Pelaksanaan Uji Biologis	34
3.5.3 Penginfeksian Bakteri	35
3.6 Parameter Penelitian	35
3.6.1 Parameter Utama	35
3.6.2 Parameter Penunjang	36
3.7 Analisis Data	37
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Jumlah Total Hemosit atau <i>Total Haemocyte Count</i> (THC)	38
4.1.1 THC Sebelum Diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	39
4.1.2 THC Setelah Diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	40
4.2 Total Hemosit Diferensial atau <i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC)	42
4.2.1 DHC Sebelum Diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	43
4.2.2 DHC Setelah Diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	46
4.3 Aktivitas Fagositosis.....	49
4.4 Gejala Klinis	51
4.5 Kualitas Air.....	53
5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia lipopolisakarida <i>Spirulina platensis</i> (Torabene, <i>et al.</i> , 1985).....	26
2. Perlakuan Penelitian	30
3. Komposisi bahan pakan uji untuk udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	32
4. Percobaan formulasi pakan untuk udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	32
5. Data rerata jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	37
6. Data rerata total hemosit diferensial udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	42
7. Aktivitas fagositosis udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji selama 30 hari	48
8. Data nilai rerata pengamatan kualitas air media pemeliharaan udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) selama penelitian	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tampak samping <i>Litopenaeus vannamei</i> jantan (Bailey-Brock dan Moss, 1992)	6
2. Anatomi internal udang (Johnson, 1995)	7
3. Siklus hidup larva udang (Bailey-Brock and Moss, 1992)	7
4. Pencernaan protein (Afrianto dan Liviawaty, 2005)	10
5. Lingkaran klasik interaksi antara inang, patogen, dan lingkungan (Braak, 2002)	13
6. (a) Representasi skematik dari sistem kekebalan tubuh bawaan pada udang. β GBP diaktivasi β 1,3 glukukan dan kemudian menginduksi degranulasi hemosit. (b) Beberapa respon imun oleh protein pengenalan pola (Lee dan Söderhäll, 2002).....	16
7. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi <i>V. harveyi</i> terlihat uropod memerah, melanosis pada segmen tubuh udang, dan nekrosis pada ekor (Utami, <i>et al.</i> , 2016).....	19
8. Pemindaian mikroskop elektron spirulina platensis dengan bagian trikoma (Tomaselli, 1997).....	21
9. Siklus hidup <i>Spirulina</i> (Ciferri, 1983)	22
10. Denah penelitian substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap protein tepung ikan pada pakan buatan.....	31
11. Hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) dengan pembesaran 400x.....	37
12. Hubungan antara substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap tepung ikan dengan jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) setelah 48 jam diinfeksi <i>Vibrio harveyi</i>	39
13. Jenis sel hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) dengan pembesaran 400x	41
14. Hubungan antara substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap tepung ikan dengan jumlah sel hyalin udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>	43

15. Hubungan antara substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap tepung ikan dengan jumlah sel granular udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>	43
16. Hubungan antara substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap tepung ikan dengan jumlah sel hyalin udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	45
17. Hubungan antara substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap tepung ikan dengan jumlah sel granular udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	46
18. Aktivitas fagositosis hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) dengan pembesaran 400x.....	48
19. Hubungan antara substitusi protein <i>Spirulina platensis</i> terhadap tepung ikan dengan aktivitas fagositosis udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	49
20. Perubahan morfologi udang vaname pasca infeksi <i>Vibrio harveyi</i> ; (a) udang sehat; (b) melanosis; (c) telson memerah dan tubuh memerah	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar Pelaksanaan Teknis.....	61
2. Komposisi Pakan Percobaan	65
3. Jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	66
4. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p>0,05$) jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>	67
5. Perhitungan data berdasarkan <i>Oneway</i> ANOVA jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>	68
6. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p>0,05$) jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi <i>V. harveyi</i>	69
7. Perhitungan data berdasarkan <i>Oneway</i> ANOVA jumlah total hemosit udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi <i>V. harveyi</i>	70
8. Total hemosit diferensial udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi <i>V. harveyi</i>	73
9. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p>0,05$) total hemosit diferensial udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>	75
10. Perhitungan data berdasarkan <i>Oneway</i> ANOVA total hemosit diferensial udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>	77
11. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p>0,05$) total hemosit diferensial udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi <i>V. harveyi</i>	83
12. Perhitungan data berdasarkan <i>Oneway</i> ANOVA total hemosit diferensial udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi <i>V. harveyi</i>	85
13. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p>0,05$) aktivitas fagositosis udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji selama 30 hari	91

14. Perhitungan data berdasarkan <i>Oneway</i> ANOVA aktivitas fagositosis udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) pasca pemberian pakan uji selama 30 hari	92
15. Data nilai rerata pengamatan kualitas air media pemeliharaan udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>) selama penelitian.....	95

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu sumberdaya hayati perairan bernilai ekonomis penting dan telah dibudidayakan secara komersial adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Pada penerapan teknologi sederhana sampai intensif dalam produksi udang vaname di wilayah tropis telah menunjukkan keunggulan (Widodo, *et al.*, 2011). Peningkatan produksi setiap tahunnya berdampak pada menurunnya kondisi kualitas perairan budidaya yang semakin tidak terkontrol, sehingga mengakibatkan munculnya beberapa penyakit yang disebabkan oleh virus maupun bakteri patogen (Feliatra, *et al.*, 2014). Serangan penyakit karena kualitas lingkungan yang buruk dapat menyebabkan kematian secara masal sehingga populasi akan menurun (Kilawati dan Maimunah, 2015).

Ketidakseimbangan antara faktor lingkungan, kondisi udang dan keberadaan mikroba patogen akan memicu terjadinya penyakit yang bersifat infeksius. Udang juga berpotensi untuk diinfeksi oleh parasit, virus, maupun bakteri (Miranti, 2016). Udang vaname pada awalnya dianggap tahan terhadap serangan penyakit, namun dalam perkembangannya udang vaname juga terserang WSSV (*White Spot Syndrome Virus*), TSV (*Taura Syndrome Virus*), IMNV (*Infectious Myo Necrosis Virus*), *Vibrio*, EMS (*Early Mortality Syndrome*) (Badrudin, 2014), dan *Shrimp Hemocyte Iridescent Virus* (SHIV) (Qiu, 2017).

Menurut Widarnani (2012), bakteri *Vibrio harveyi* yang menyebabkan penyakit udang berpendar merupakan patogen oportunistik yang umum dijumpai di lingkungan pemeliharaan, jika kondisi udang menurun maka bakteri ini akan bersifat patogen. Penanggulangan penyakit udang berpendar umumnya menggunakan antibiotik, tetapi saat ini penggunaan antibiotik sudah dibatasi

karena dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten serta menimbulkan residu pada udang.

Menurut Kurniawan dan Susianingsih (2014), saluran pencernaan udang selalu berhubungan langsung dengan lingkungan melalui air, makanan dan sedimen yang tidak jarang membawa *Vibrio* patogen. Hal tersebut dapat mengganggu pertumbuhan, menurunkan sistem imun udang bahkan kematian dari udang yang dipelihara.

Manajemen produksi yang tepat perlu dilakukan untuk menangani permasalahan ini antara lain melalui manajemen kesehatan, seperti meningkatkan sistem imun dan bersifat antibakteri, mempertahankan kelangsungan hidup serta meningkatkan pertumbuhan (Miranti, 2016).

Peningkatan daya tahan tubuh udang dapat dilakukan dengan pemanfaatan *Spirulina platensis* pada pakan sebelum terjangkit penyakit. Menurut Putri, *et al.* (2013), senyawa aktif yang terkandung dalam *Spirulina* sp. mempertahankan jumlah total hemosit dalam kondisi sehat dan tidak mengalami stres. Menurut Lee (2003), pakan udang yang mengandung *Spirulina* berguna dalam meningkatkan daya tahan udang yang terpapar patogen dalam lingkungan budidaya.

Menurut Christwardana, *et al.* (2013), *Spirulina platensis* sengaja dipilih sebagai sumber makanan masa depan oleh *International Association of Applied Microbiology* karena sebagai sumber mikronutrien dan mengandung protein yang tinggi (55-70%), serta disebut sebagai protein sel tunggal (PST). Menurut Utomo, *et al.* (2007), substitusi tepung ikan menggunakan protein sel tunggal (PST) merupakan salah satu upaya untuk mengurangi ketergantungan industri pakan ikan terhadap tepung ikan. PST merupakan bahan dengan kandungan nutrisi yang setara atau mendekati bahan yang akan disubstitusi, jumlahnya mencukupi dan tersedia secara berkelanjutan.

Spirulina platensis mempunyai komponen utama dinding sel yang mengandung peptidoglikan dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida mampu meningkatkan ekspresi molekul immuno-reaktif (Braak, 2002). Lipopolisakarida *cyanobacteria* dapat menimbulkan reaksi negatif pada respon imun lipopolisakarida bakteri gram negatif seperti *Vibrio harveyi* (Durai, et al., 2015). Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh *Spirulina platensis* pada pakan terhadap jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis udang vaname yang diinfeksi *Vibrio harveyi*.

1. 2 Perumusan Masalah

Apakah *Spirulina platensis* pada pakan buatan dapat mempengaruhi jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi* ?

1. 3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh *Spirulina platensis* pada pakan buatan terhadap jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*.

1. 4 Hipotesis

H0 : Diduga *Spirulina platensis* pada pakan buatan tidak mempengaruhi jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*.

H1 : Diduga *Spirulina platensis* pada pakan buatan mempengaruhi jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Vibrio harveyi*.

1. 5 Kegunaan

Kegunaan penelitian ini untuk memberikan informasi kepada para pembudidaya udang, khususnya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) mengenai pemanfaatan bahan alami yang ramah lingkungan menggunakan *Spirulina platensis* pada pakan buatan untuk mengendalikan *Vibrio harveyi* dengan meningkatkan sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*).

1. 6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Manajemen Kesehatan Akuatik Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah pada bulan Januari hingga April 2018.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

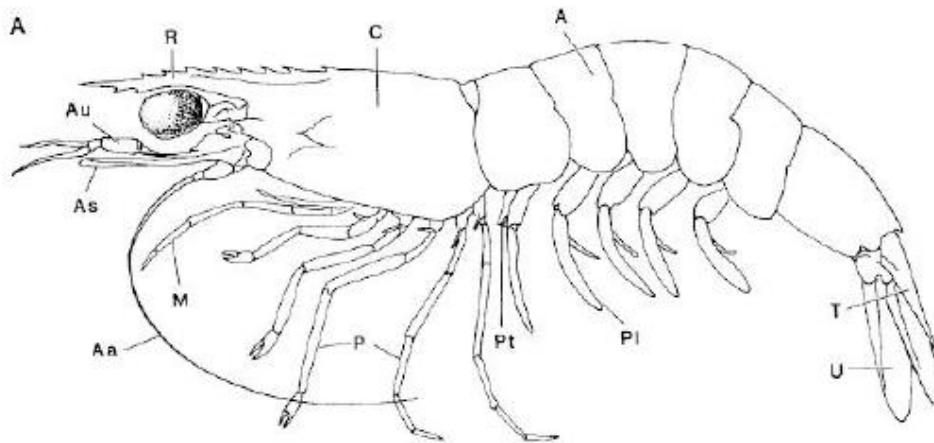
2.1.1 Klasifikasi

Menurut Wyban dan Sweeney (1991), klasifikasi udang putih pasifik, *Litopenaeus vannamei* adalah sebagai berikut :

Filum : Arthropoda
Kelas : Crustacea
Ordo : Decapoda
Famili : Penaeidae
Genus : *Litopenaeus*
Spesies : *Litopenaeus vannamei*

2.1.2 Morfologi

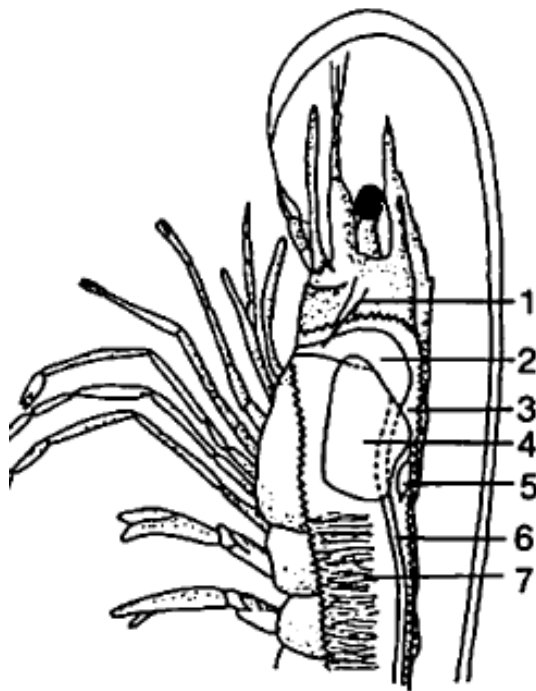
Menurut Suyanto dan Takarina (2009), tubuh udang dapat dibedakan menjadi tiga bagian yaitu kepala-dada (*cephalothorax*) yang tertutup oleh satu kelopak yang disebut karapas. Karapas mempunyai tonjolan yang meruncing ke arah depan, yaitu rostrum. Rostrum tampak bergerigi pada tepi-tepinya. Belakang *cephalothorax* ada bagian badan (abdomen) dan ekor. Kepala udang terdiri dari 5 ruas dan 8 ruas di bagian dada. Masing-masing ruas mempunyai sepasang anggota badan yang memiliki fungsi tersendiri. Seluruh ruas-ruas tersebut tertutup oleh kulit keras tetapi tipis pada setiap sambungannya sehingga memungkinkan udang bergerak lebih fleksibel. Bagian pangkal rostrum terdapat sepasang mata majemuk bertangkai. Mulut berada di bagian bawah mata, dilengkapi dengan kelengkapan anggota kepala lain, yaitu sungut kecil (*antennula*), sirip kepala (*scaphocerit*), sungut besar (*antenna*), rahang (*mandibula*), alat bantu rahang (*maxilla*), dan *maxilliped*.



Gambar 1. Tampak samping *Litopenaeus vannamei* jantan. A, Abdomen; Aa; Antenna; As, Antennal scale; Au, Antennule; C, Karapas; M, Maxiliped ketiga; P, Pereiopod (kaki jalan); Pl Pleopod (kaki renang); Pt, Petasma; R, Rostrum; T, Telson; U, Uropod. (Bailey-Brock dan Moss, 1992).

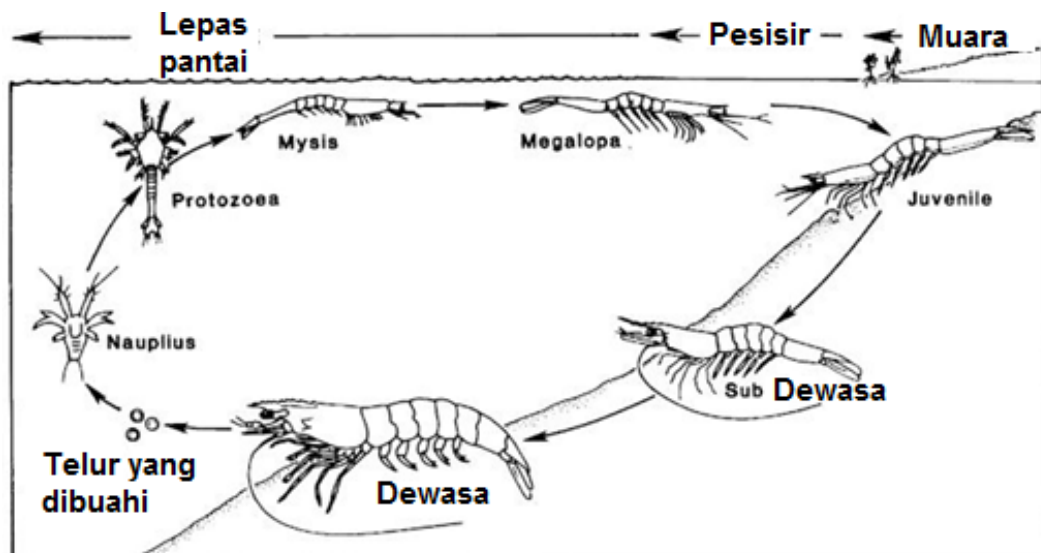
Bagian kepala udang vaname terdiri dari antenula, antenna, mandibula, dan 2 pasang maxillae. Udang vaname juga memiliki 3 pasang maxiliped dan 5 pasang kaki jalan (periopoda) atau kaki sepuluh (decapoda). Maxiliped sudah mengalami modifikasi dan berfungsi sebagai organ pencernaan (Hidayat, *et al.*, 2017). Menurut Bailey-Brock dan Moss (1992), pakan udang pasca larva hingga dewasa dengan cara mengarahkan pakan ke mulut menggunakan kaki jalan dan maxiliped. Udang dengan perlahan mengunyah pakan menggunakan mandibula dan maxillae. Gambar morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 1.

Morfologi internal udang dan arthropoda lainnya memiliki sistem sirkulasi terbuka, oleh karena itu, darah dan sel darah disebut dengan hemolim dan hemosit. Krustasea memiliki jantung berotot yang terletak di cephalothorax. Katup pembuluh hemolim meninggalkan jantung dan cabang beberapa kali sebelum hemolim tiba di sinus yang tersebar di seluruh tubuh, dimana pertukaran substansi terjadi. Hemolim setelah melewati insang akan kembali ke jantung dengan menggunakan 3 bukaan tanpa katup (Braak, 2002).



Gambar 2. Anatomi internal udang; 1, Kerongkongan; 2, Perut; 3, Hemocoel (ruang darah; 4, Kelenjar pencernaan (hepatopankreas); 5 Jantung; 6, Usus; 7, Otot perut (Johnson, 1995).

2.1.3 Siklus Hidup



Gambar 3. Siklus hidup larva udang (Bailey-Brock and Moss, 1992).

Menurut Haliman dan Dian (2005), spesies ini memiliki 6 stadia *nauplii*, 3 stadia *zoea*, 3 stadia *mysis* dan stadia *post larva* dalam siklus hidupnya. Stadia

post larva berkembang menjadi *juvenil* dan akhirnya menjadi dewasa. Menurut Gao, *et al.* (2015), selama tahap awal siklus kehidupan udang vaname mengalami metamorfosis dalam 4 tahap larva: *nauplii*, *zoea*, *mysis*, dan *post larva*. Menurut Hidayat, *et al.* (2017), ciri morfologi yang membedakan udang vaname dengan jenis udang lainnya adalah duri suporbital pada fase kedua dan ketiga *zoea*. Gambar siklus hidup larva udang vaname dapat dilihat pada Gambar 3.

2.1.4 Nutrisi dan Pertumbuhan

Menurut Purnamasari, *et al.* (2017), udang vaname memiliki keunggulan yang tepat untuk kegiatan budidaya udang dalam tambak antara lain: responsif terhadap pakan, lebih tahan terhadap serangan penyakit, tingkat kelangsungan hidup yang tinggi, padat tebar cukup tinggi dan waktu pemeliharaan yang relatif singkat yakni sekitar 90-100 hari per siklus.

Menurut Suyanto dan Takarina (2009), pertumbuhan udang menyebabkan kulit keras pada udang yang mengandung zat kitin terlepas dan berganti dengan kulit baru yang lembek secara periodik. Kulit mengeras selama beberapa hari, tubuh udang tersebut pun berkesempatan untuk bertumbuh besar dengan cepat. Udang muda mengalami pergantian kulit terjadi lebih sering ketimbang udang sudah dewasa, oleh karena itu ketika masih muda udang akan tumbuh lebih cepat dibanding sudah besar.

Menurut Gao, *et al.* (2015), pergantian cangkang (*moulting*) terjadi 12 kali lebih sering selama tahap larva ini dibandingkan pada tahap selanjutnya dari siklus hidup udang. Rerata, udang *Penaeid*, seperti *Litopenaeus vannamei*, mengalami sekitar 50 pergantian cangkang selama seumur hidup. *Moulting* tidak hanya membentuk morfologi, fisiologi, dan perilaku udang, tapi juga berperan

dalam deformitas, kematian, dan predasi. *Moulting* dapat mengurangi keterikatan dan parasit, dan juga mempengaruhi regenerasi anggota tubuh.

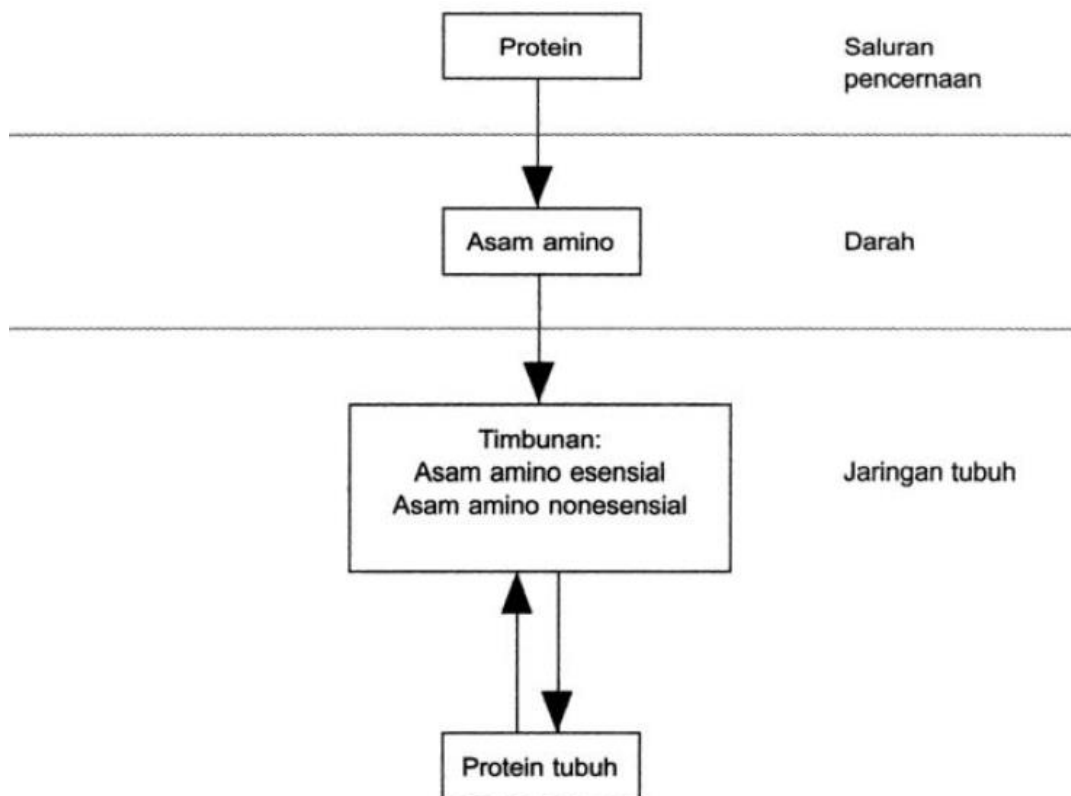
Menurut Sumeru dan Anna (1992), selama pemeliharaan udang perlu diperhatikan dalam memenuhi pakan berkualitas baik yang diberikan secara merata untuk menghindari sifat kanibalisme pada udang, sehingga kondisi budidaya dapat dikendalikan. Keadaan kompetisi dan kanibalisme akan semakin tajam dan menyolok apabila ukuran udang sangat bervariasi. Udag berukuran besar mempunyai kemampuan dan ukuran mulut yang lebih besar daripada udang kecil, mengakibatkan udang ukuran lebih kecil semakin terhambat pertumbuhannya, karena nutrisi yang dibutuhkan tidak terpenuhi akibat kurang mendapatkan makanan. Kebutuhan nutrisi udang vaname meliputi:

a. Protein

Protein merupakan senyawa organik kompleks, tersusun atas asam amino yang mengandung unsur-unsur C, H, O, dan N. Protein sebagai zat pembangun berfungsi dalam membentuk jaringan baru dan mempertahankan jaringan yang ada (Sumeru dan Anna, 1992).

Protein dibutuhkan dalam pakan untuk menyediakan asam amino esensial dan nitrogen untuk menyintesis asam amino nonesensial. Asam amino adalah bahan dasar pembentuk protein. Asam amino esensial tidak dapat disintesis oleh tubuh sehingga harus selalu didatangkan dari luar tubuh melalui pakan. Asupan protein yang masuk ke dalam tubuh dicerna atau dihidrolisis untuk membebaskan asam amino agar dapat diserap dan didistribusikan oleh darah ke seluruh organ dan jaringan tubuh. Asam amino merupakan produk akhir dari perombakan protein. Proses perubahan protein menjadi asam amino berlangsung di dalam saluran pencernaan, terutama usus halus. Protein yang berbentuk polipeptida (polimer dari asam amino) akan diubah menjadi peptida yang lebih sederhana oleh enzim pepsin dan tripsin (merupakan protease).

Peptida akan diubah menjadi asam amino dengan bantuan peptidase. Asam amino akan diserap (diabsorpsi) oleh darah dan diangkut ke seluruh bagian tubuh. Setelah di dalam jaringan tubuh, asam amino akan diubah kembali menjadi protein dan selanjutnya disimpan sebagai cadangan makanan dalam bentuk protein tubuh (Afrianto dan Liviawaty, 2005). Proses pencernaan protein dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pencernaan protein (Afrianto dan Liviawaty, 2005).

b. Lemak

Lemak dibutuhkan sebagai sumber energi. Keberadaan lemak mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup, terutama beberapa tipe asam lemak yang sangat berpengaruh pada kehidupan udang. Asam lemak juga berfungsi sebagai pelarut vitamin. Komposisi asam lemak yang ada pada udang sangat erat hubungannya dengan asam lemak yang terkandung pada pakan yang diberikan. Khusus bagi organisme perairan, lemak

berperan dalam memperkecil berat jenis, sehingga organisme dapat melayang di air. Asam lemak mempunyai peran penting tidak hanya sebagai sumber energi, tetapi juga sebagai zat esensial untuk udang. Asam lemak linoleat, linolenat, dan arakidonat merupakan asam lemak esensial yang sangat penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang (Sumeru dan Anna, 1992).

c. Karbohidrat

Menurut Sumeru dan Anna (1992), karbohidrat merupakan senyawa organik yang terdiri dari unsur karbon, hidrogen, dan oksigen dalam perbandingan yang berbeda-beda. Karbohidrat digolongkan menjadi:

- Monosakarida seperti glukosa, galaktosa, dan fruktosa
- Disakarida seperti sukrosa, maltosa, dan trehalosa
- Polisakarida seperti dekstrin dan pati

Udang juga memerlukan jumlah karbohidrat dalam jumlah banyak, antara 20-45%. Efisiensi penggunaan karbohidrat oleh udang berbeda, bergantung dari sumbernya, karbohidrat bagi udang selain diperlukan sebagai pembakar dalam proses metabolisme, juga diperlukan dalam sintesis khitin dalam kulit keras. Udang mempunyai eksoskeleton yang disusun oleh khitin yang sangat diperlukan dalam proses pertumbuhan, untuk membentuk dan mengganti eksoskeleton selama ganti kulit (*moulting*). Komponen utama eksoskeleton krustasea disintesis dari glukosa melalui glukosamin (Kordi, 2010).

d. Energi

Energi bukan merupakan salah satu dari nutrien, tetapi energi adalah kalor (panas) yang dihasilkan dari metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Kebutuhan energinya ikan budidaya menggunakan protein dan lemak sebagai sumber utama dan karbohidrat sebagai sumber sekunder (Sukarman, 2011). Udang vaname membutuhkan energi digunakan untuk proses osmoregulasi dan proses penyesuaian temperatur lingkungan. Kekurangan

kandungan energi dalam tubuh akan berdampak negatif terhadap pertumbuhan dan aktivitas kehidupan udang (Kordi, 2010). Pemanfaatan energi dimulai dari makanan yang masuk dalam tubuh (*food intake*), yang dianggap sebagai energi bruto (*Gross Energy* = GE). *Gross energy* didistribusikan dalam dua proses kegiatan yaitu, proses pencernaan (*Digestible Energy* = DE) yang memerlukan kira-kira 85% energi dan proses pengolahan hasil-hasil buangan proses pencernaan yang memerlukan kira-kira 15% energi (Buwono, 2000).

e. Mineral

Fungsi mineral sebagai unsur pokok dari eksoskeleton, menjaga keseimbangan tekanan osmosa, unsur pokok dalam struktur jaringan, berperan dalam transmisi syaraf pusat dan kontraksi otot, sebagai komponen enzim, vitamin, hormon, pigmen, kofaktor dalam metabolisme, katalisator dan aktivitas enzim (Zainuddin, 2012).

f. Vitamin

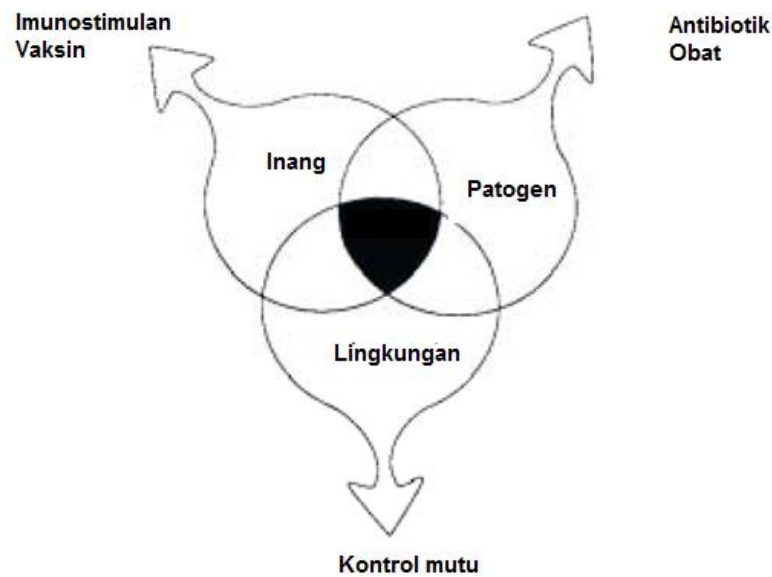
Menurut Afrianto dan Liviawaty (2005), vitamin adalah senyawa organik yang esensial bagi pertumbuhan. Vitamin harus diberikan melalui pakan karena tubuh tidak mampu membuatnya. Vitamin dibagi menjadi vitamin larut dalam lemak dan vitamin larut dalam air. Golongan vitamin yang larut dalam lemak yaitu vitamin A, D, E, dan K. Vitamin yang larut dalam air meliputi vitamin B dan C. vitamin B terdiri atas tiamin (B-1), riboflavin (B-2), piridoksin (B-6), sianokobalamin (B-12), niasin, biotin, kolin, asam folat, inositol, dan asam pantotenat. Peran vitamin meliputi:

- Katalisator (pemacu) dalam proses metabolisme. Vitamin merupakan bagian dari enzim atau koenzim yang berperan dalam pengaturan berbagai metabolisme. Vitamin mampu mempercepat proses perombakan pakan tanpa mengalami perubahan

- Membantu protein dalam memperbaiki dan membentuk sel baru
- Mempertahankan fungsi berbagai jaringan tubuh
- Vitamin E dalam tubuh udang dapat meningkatkan daya tahan tubuh, serta meningkatkan berat tubuh udang (Gimenez, *et al.*, 2004)
- 175 mg/kg vitamin E pada pakan menunjukkan hasil terbaik kematangan gonad udang pada hari ke-14 (19,45%) (Maulana, *et al.*, 2017)

2.1.5 Manajemen Kesehatan

Menurut Kilawati dan Maimunah (2015), perkembangan sistem budidaya dari tradisional ke intensif pada budidaya udang vaname memiliki potensi terhadap peningkatan pencemaran lingkungan. Kurang optimalnya pemanfaatan pakan yang diberikan secara berlebihan akan menyebabkan penumpukan bahan organik yang memerlukan oksigen dalam proses dekomposisinya, sehingga ketersediaan oksigen bagi biota didalamnya menjadi berkurang. Jika hal ini terjadi secara terus menerus maka akan menyebabkan kematian bagi udang dan biota lainnya. Bahan pencemaran yang sulit untuk diuraikan oleh mikroorganisme juga menyebabkan penimbunan dan berakibat kerusakan bagi lingkungan yang secara langsung akan mengganggu organisme yang hidup di lingkungan tersebut.



Gambar 5. Lingkaran klasik interaksi antara inang, patogen, dan lingkungan (Braak, 2002).

Menurut Braak (2002), penyakit dapat dilihat sebagai hasil interaksi yang kompleks antara inang, patogen, dan lingkungan (Gambar 5). Patogen sering muncul untuk menggantikan masalah patogen yang dipecahkan. Tindakan pencegahan perlu dilakukan untuk meningkatkan pengendalian penyakit. Penggunaan immunostimulan seperti *Spirulina platensis* meningkatkan perlindungan terhadap berbagai macam penyakit, menjadi penting dalam meningkatkan kegiatan budidaya.

Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lain yang mampu meningkatkan mekanisme respon spesifik dan non spesifik (Anderson, 1992). Imunostimulan sebagai salah satu alternatif yang aman dan murah untuk mengatasi patogen yang disebabkan oleh virus maupun bakteri (Supriatna, *et al.*, 2014).

Pemberian immunostimulan pada udang tidak memiliki efek samping dan sangat baik untuk diterapkan pada organisme yang tidak mempunyai sel memori

dalam sistem imunnya sehingga dapat merangsang dan memaksimalkan respon imun non spesifik (Hidayat, *et al.*, 2017).

2.1.6 Sistem Pertahanan Udang

Menurut Söderhäll dan Cerenius (1992), kultikula keras sebagai penghalang fisik yang juga dapat mengandung faktor antimikroba dianggap sebagai pertahanan eksternal. Hemosit memainkan peran penting pada pertahanan internal.

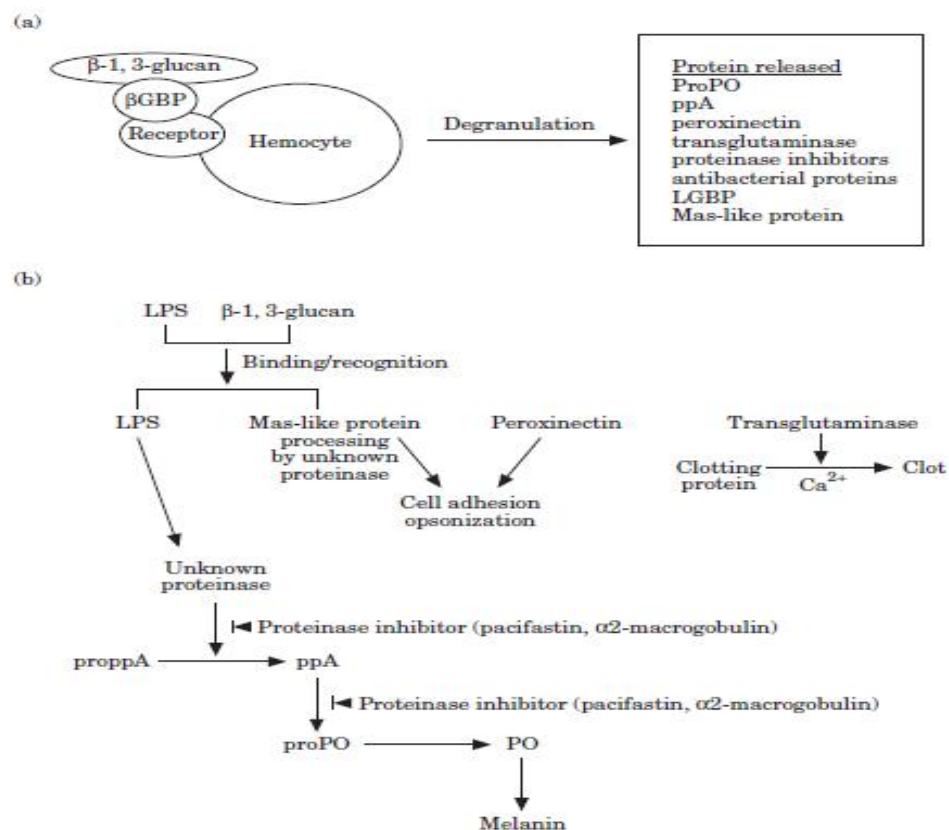
Udang dilindungi dengan sistem imun berupa *barrier* fisik yang kuat (berupa lapisan eksoskeleton) selanjutnya berupa pertahanan seluler dan humoral berupa hemolim. Ketika barrier fisik rusak oleh agen infeksius, sistem imun seluler dan humoral bertanggung jawab untuk menghilangkan agen infeksius (Braak, 2002). Terdapat beberapa organ yang tidak terlindungi dengan baik. Insang adalah organ yang hanya dilapisi eksoskeleton yang tipis sehingga rentan untuk dimulai jalur infeksi dari insang. Saluran pencernaan adalah organ dalam namun tidak memiliki perlindungan yang baik terhadap lingkungan. Struktur anatomis usus udang tidak memiliki *Peyer's plate* yang mampu berfungsi sebagai pertahanan pertama dari antigen, sedangkan saluran pencernaan selalu berhubungan langsung dengan lingkungan melalui air, makanan dan sedimen yang tidak jarang membawa vibrio patogen (Kurniawan dan Susianingsih, 2014).

Secara umum sistem pertahanan tubuh udang terdiri dari dua bagian yaitu sistem pertahanan tubuh seluler dan sistem pertahanan tubuh humoral. Sistem pertahanan tubuh seluler meliputi fagositosis sel-sel hemosit, nodulasi dan enkapsulasi. Sistem pertahanan tubuh humoral mencakup phenoloksidase (PO), prophenoloksidase (proPO), lektin dan aglutinin. Sistem pertahanan tubuh melawan serangan organisme patogen. Salah satu faktor tersebut adalah lingkungan yang buruk akibat tingginya pencemaran oleh bahan organik.

Pencemaran bahan organik ini akan menghambat aktivitas fagosit dari udang yang sehat (Darwatin, *et al.*, 2016).

a. Respon Imun

Menurut Lee dan Söderhäll (2002), infeksi mikroba mengaktifkan berbagai respon seluler dan humoral, seperti halnya cedera septik memicu kaskade proteolitik yang menyebabkan koagulasi darah dan melanisasi. Sistem pembekuan merupakan reaksi penting, melalui polimerisasi dari protein pembekuan yang ditemukan dalam plasma dan dikatalisis oleh transglutaminase yang tergantung ion kalsium yang dilepaskan dari hemosit pada luka. Sistem pengaktifan proPO terdiri dari beberapa protein yang terlibat dalam pertahanan kekebalan pada invertebrata yang mengarah ke produksi melanin, adhesi sel, enkapsulasi, dan fagositosis. Sistem pengaktifan proPO merupakan sistem kekebalan yang efisien untuk pengenalan diri dan dimulai dengan pengenalan pada lipopolisakarida atau peptidoglikan dari dinding sel bakteri dan β 1,3 glukan dari jamur. Sistem pengaktifan proPO mengandung kaskade proteinase yang terdiri dari protein pengenal pola atau *Pattern Recognition Proteins* (PRPs), beberapa proteinase zimogenik, dan *prophenoloxidase* (proPO). Senyawa PO ada sebagai zimogen tidak aktif di bawah kondisi fisiologis normal dan mereka dapat diaktifkan oleh pembelahan proteolitik. Senyawa ProPO disintesis dan dilokalisasi dalam butiran sel darah dan dilepas ke dalam plasma oleh eksositosis. Senyawa PRPs adalah molekul yang memicu sistem proPO, karena mereka mengikat komponen dan kemudian menginduksi aktivasi proteinase di sistem proPO, kemudian proPO secara proteolitik dikonversi menjadi *phenoloxidase* oleh tripsin endogen yang disebut *prophenoloxidase activating enzyme* (ppA).



Gambar 6. (a) Representasi skematik dari sistem kekebalan tubuh bawaan pada udang. (b) Beberapa respon imun oleh protein pengenalan pola (Lee dan Söderhäll, 2002).

b. Kekebalan Bawaan

Kekebalan bawaan invertebrata tidak mengandung limfosit spesifik antigen dan tidak menghasilkan imunoglobulin, akan tetapi mengandung sejumlah molekul terlarut yang mengikat dan melisiskan mikroorganisme. Molekul mikroorganisme tersebut adalah protein seperti lektin, yang mengikat karbohidrat pada dinding sel mikroba dan kemudian memulai beberapa respon imun serta mengaglutinasi mikroorganisme yang menyerang, diaktifkan oleh patogen atau antigen lingkungan dan dimediasi oleh interaksi *Pattern Recognition Proteins* (PRPs), karena sel-sel efektor primitif memilih akan mengenali pola molekuler daripada struktur khusus dari organisme mikro yang menyerang. Molekul yang berhubungan dengan patogen, adalah LPS atau peptidoglikan dinding sel bakteri, β 1,3 glukon dinding sel jamur, dan RNA

untaian ganda virus. Protein pengikat LPS dan atau β 1,3 glukon (LBP, GBP, atau LGBP), *Peptidoglycan Recognition Protein* (PGRP), beberapa jenis lektin, dan hemolim ditemukan dalam berbagai invertebrata. Lektin atau aglutinin adalah glikoprotein biasanya tanpa aktivitas katalitik yang memiliki kemampuan untuk mengikat karbohidrat tertentu. Mereka dapat mengikat sel dan reaksi aglutinasi terjadi. Interaksi antara lektin dan karbohidrat terlibat dalam berbagai aktivitas biologis, misalnya transportasi seluler dan jaringan dari karbohidrat dan glikoprotein, adhesi sel, opsonisasi, dan pembentukan nodul. Terutama lektin tipe-C, terlibat dalam pengenalan kekebalan invertebrata. Lektin konstitutif yang memiliki sifat pengikat LPS yang ditunjukkan sebagai aktivitas pembersihan bakteri dan efek opsonik (Söderhäll dan Cerenius, 1992).

2.2 *Vibrio harveyi*

2.2.1 Klasifikasi

Vibrio harveyi adalah organisme bercahaya gram negatif yang hidup di air laut. Organisme awalnya dinamakan sebagai *Achromobacter harveyi* (setelah E.N. Harvey, pelopor dalam studi sistematis *bioluminescence*) kemudian setelah beberapa waktu dinamakan *Lucibacterium harveyi*, dan *Beneckea harveyi* selanjutnya sesuai dengan taksonomi saat ini dinamakan sebagai *Vibrio harveyi* (Austin dan Zhang, 2006).

Menurut Urbanczyk, *et al.* (2013), klasifikasi *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio harveyi*

2.2.2 Sistem Penyerangan pada Udang Vaname

Bakteri *Vibrio* merupakan patogen sekunder (*opportunistic pathogen*), yaitu melakukan infeksi pada saat kondisi stres dan lemah. Kondisi lingkungan yang ekstrim seperti kualitas air yang kurang baik, akibat adanya pemberian pakan yang berlebihan mengakibatkan akumulasi limbah organik sehingga menyebabkan terbentuknya lapisan anaerob yang menghasilkan H₂S. Akumulasi H₂S mempermudah perkembangan patogen oportunistik dan menimbulkan penyakit pada udang (Susianingsih dan Atmomarsono, 2014).

Beberapa jenis bakteri *Vibrio* dapat menghasilkan enzim protease yang bersifat toksin diantaranya siderofor yang merupakan agen penyapit zat besi yang berfungsi mengikat zat besi dari darah inang. *Vibrio harveyi* memiliki zat *Cysteine protease* dan merupakan toksin pertama yang ditemukan pada *Vibrio* (Feliatra, *et al.*, 2014).

Laut juga telah terbukti sebagai penghasil sumber enzim. Bakteri yang tinggal didekat hidrotermal (air panas geyser di dasar laut) telah menghasilkan generasi kedua enzim stabil yang digunakan dalam PCR dan modifikasi enzim DNA, termasuk ligase dan enzim restriksi. Spesies laut *Vibrio* menghasilkan sejumlah protease. *Vibrio* juga merupakan sumber kolagenase yang baik, protease yang digunakan dalam kultur jaringan (Nugroho dan Rahayu, 2017).

Vibriosis menurut Bintari, *et al.* (2012), akan menyebabkan peradangan pada organ hepatopankreas. Patogen yang menginfeksi sel hepatopankreas akan memproduksi produk ekstraseluler (ECP) yang dapat berupa enzim. Produksi enzim tersebut menyebabkan peningkatan vakuolalisasi sel sehingga mendorong tingginya pembentukan bolitas. Pembentukan bolitas menyebabkan terhalangnya kelenjar pencernaan bagian atas akibat pembengkakan jaringan

yang berbentuk seperti bola. Akibatnya larva tidak dapat mencerna makanan sehingga fungsi fisiologis terganggu dan berakibat pada perubahan perilaku dan pada tahap akhir menyebabkan kematian larva.

2.2.3 Gejala Udang Vaname terinfeksi *Vibrio harveyi*



Keterangan : (a) ekor (*uropod*) memerah, (b) melanosis, (c) nekrosis pada ekor (*uropod*)

Gambar 7. Gejala klinis udang vaname pasca infeksi *V. harveyi* terlihat uropod memerah, melanosis pada segmen tubuh udang, dan nekrosis pada ekor (Utami, *et al.*, 2016).

Menurut Utami, *et al.* (2016), gejala klinis yang terlihat pada udang pasca infeksi *Vibrio harveyi* ditandai dengan perubahan tingkah laku dan morfologi tubuh. Perubahan tingkah laku yang terjadi antara lain udang mendekati aerasi, penurunan respon pakan, penurunan aktivitas. Perubahan morfologis yang terjadi seperti kaki renang (*pleopod*), telson memerah, nekrosis pada ekor (*uropod*), melanosis pada segmen tubuh udang (Gambar 7).

2.3 *Spirulina platensis*

2.3.1 Klasifikasi

Menurut Cheevadhanarak, *et al.* (2012), secara historis klasifikasi *Arthrospira* dan *Spirulina* merupakan subjek kontroversi. *Arthrospira* dan *Spirulina* serupa dalam karakter morfologi: silinder, multiseluler, *cyanobacteria* berfilamen. Mereka berdua milik filum *cyanobacteria*, ordo *oscillatoriales* dan famili

oscillatoriaceae. Namun mereka dapat dibedakan berdasarkan kehadiran septa: *Arthrospira* memiliki septa, sedangkan *Spirulina* tidak memiliki.

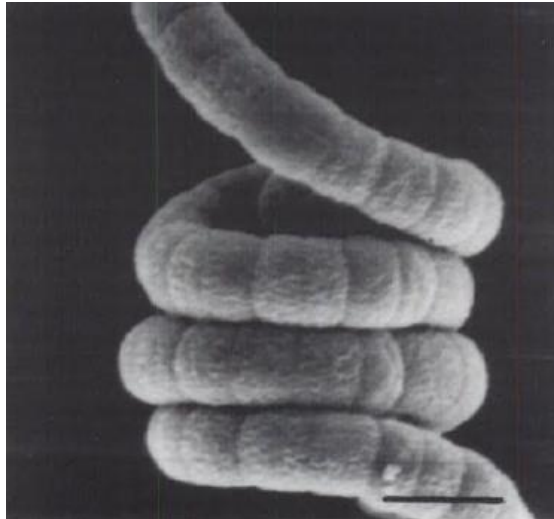
Menurut Bold dan Wynne (1978), *Spirulina platensis* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Cyanopyta
Kelas : Cyanophyceae
Ordo : Nostocales
Famili : Oscillatoriaceae
Genus : *Spirulina*
Spesies : *Spirulina platensis*

2.3.2 Morfologi

Spirulina dan *Arthrospira* harus diakui berbeda. Investigasi seluruh dunia pada mikroalga telah dilakukan atas nama *Spirulina*, sebutan umum antara ilmuwan dan konsumen ini terbukti sulit diubah. Mikroalga dimanfaatkan sebagai makanan dengan sifat-sifat kesehatan dikaitkan dengan genus *Arthrospira*, tetapi terkadang disebut dengan *Spirulina* (Sanchez, *et al.*, 2003).

Spirulina adalah cyanobacterium berselaput ganda multisel. Di bawah mikroskop, *Spirulina* muncul sebagai filamen biru-hijau yang terdiri dari sel-sel silindris yang disusun tidak bercabang. Trikoma berbentuk helix. Benangnya bergerak, meluncur di sepanjang porosnya. Bentuk helix dari trikoma adalah karakteristik dari genus tetapi parameter helix (yaitu, panjang dan dimensi helix) bervariasi dengan spesies, dan bahkan dalam spesies yang sama, perbedaan telah diamati pada parameter ini atau dapat diinduksi dengan mengubah kondisi lingkungan seperti suhu pertumbuhan. Bentuk helix hanya dipertahankan dalam media cair, dan di media padat filamen menjadi spiral (Ciferri, 1983). Lebar trikoma bervariasi dari 6 hingga 12 μm , dan terdiri dari sel-sel silindris. Diameter helix bervariasi dari 30 hingga 70 μm (Tomaselli, 1997).



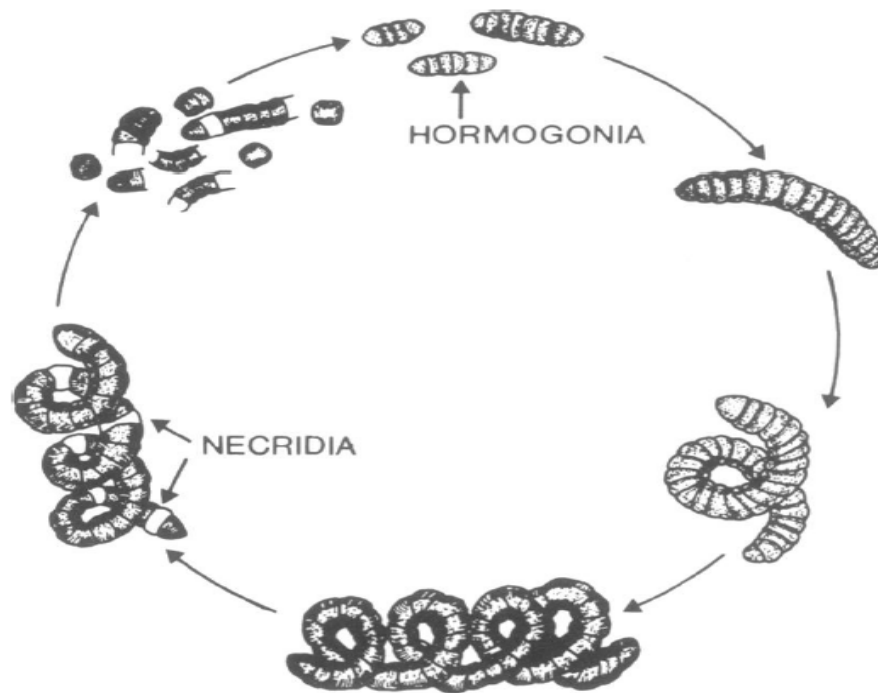
Gambar 8. Pemindaian mikrograf elektron spirulina platensis dengan bagian trikoma (Tomaselli, 1997).

2.3.3 Habitat dan Siklus Hidup

Spirulina adalah jenis *cyanobacteria* atau bakteri yang mengandung klorofil dan dapat bertindak sebagai organisme yang bisa melakukan fotosintesis untuk membuat makanan sendiri, serta mengandung fikosianin tinggi sehingga warnanya cenderung hijau biru. *Spirulina* dapat tumbuh dengan baik di danau, air tawar, air laut, dan media tanah. *Spirulina* juga memiliki kemampuan untuk tumbuh di media yang mempunyai salinitas tinggi, pH 8,5-11, dimana mikroorganisme lain tidak bisa tumbuh dengan baik dalam kondisi ini. Suhu terendah *Spirulina platensis* hidup adalah 15°C dan pertumbuhan yang optimal adalah 35-40°C (Christwardana, *et al.*, 2013).

Menurut Ciferri (1983), siklus hidup *Spirulina* dalam budidaya skala laboratorium lebih sederhana (Gambar 9). Trikoma yang matang akan rusak dalam beberapa bagian melalui pembentukan sel-sel khusus, nekridia, yang mengalami lisis, sehingga menimbulkan cakram pemisah *biconcave*. Fragmentasi dari trikoma pada nekridia menghasilkan rantai sel yang melayang, sel rantai pendek (2 hingga 4 sel), hormogonia, yang bergerak menjauh dari filamen utama untuk menghasilkan trikoma baru. Sel-sel dalam hormogonium

kehilangan bagian-bagian yang melekat dari sel-sel nekridial, menjadi bulat diujung distal dengan sedikit atau tanpa penebalan dinding. Selama proses ini, sitoplasma tampak kurang bergranulasi dan sel-selnya menjadi warna biru-hijau pucat. Jumlah sel dalam hormogonia meningkat akibat pembelahan sel, sementara sitoplasma menjadi bergranula, dan sel-selnya memiliki warna biru-hijau yang benderang. Proses ini, trikoma bertambah panjang dan diasumsikan bentuk *typical helicoidal*. Pematangan spontan tetapi jarang dari trikoma bersama dengan pembentukan nekridia menjamin pertumbuhan dan penyebaran organisme.



Gambar 9. Siklus hidup *Spirulina* (Ciferri, 1983)

Spirulina ini biasanya digunakan sebagai bahan makanan dan farmasi. *Spirulina* pada media air tawar perlu ditambahkan NaHCO_3 , fosfat, dan urea untuk mempengaruhi laju pertumbuhan mikroalga ini. *Spirulina* air tawar memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi (0,16/hari) dan menghasilkan 1,23-1,34 g/l biomassa kering, sedangkan *Spirulina* air laut memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih rendah dan menghasilkan biomassa 10,3 g/m²/hari. *Spirulina* air laut

memiliki bau amis seperti rumput laut atau cumi-cumi. Bau amis ini dihasilkan dari kandungan mineral di dalam *Spirulina* (Christwardana, *et al.*, 2013).

2.3.4 Komposisi Kimia

Spirulina dikenal kaya akan protein (60-70% dari berat kering) dan sumber daya berharga untuk senyawa bioaktif penting untuk kesehatan. *Spirulina platensis* mengandung senyawa bioaktif, termasuk asam alpha-linoleat, asam stearidonic, asam eicosapentaenoic, asam arakidonat, asam docosahexaenoic dan vitamin (B₁, B₂, B₃, B₅, B₉, B₁₂, C, D, E, dan K), pigmen (beta-karoten, zeaxanthin, klorofil a, xanthophylls, diatoxanthin dan oscillaxanthin) (Parsaeimehr dan Chen, 2013).

Kandungan mineral dalam *Spirulina* berbeda satu sama lain tergantung pada jenis media pertumbuhannya. *Spirulina* yang dibudidayakan pada air laut mengandung mineral lebih tinggi daripada media air tawar maupun payau. Air laut mengandung garam yang tinggi seperti NaCl, KCl, MgCl. *Spirulina* ini mengandung fikosianin, polisakarida, inositol yang lebih tinggi meskipun mengandung garam yang tinggi (Kabinawa, 2006). Komposisi kimia *Spirulina* sebagai salah satu alternatif bahan pangan alami yaitu sebagai berikut :

a. Kandungan Protein

Menurut Christwardana, *et al.* (2013), protein *Spirulina platensis* ini merupakan suatu senyawa kompleks yang kaya akan asam amino esensial, metionin (1,3-2,75%), sistin (0,5-0,7%), triptofan (1-1,95%), dan lisin (2,6-4,63%). Kadar asam amino yang tinggi baik untuk kesehatan karena merupakan salah satu bahan pembentuk protein.

b. Kandungan Asam Lemak

Jenis kandungan lemak tertinggi dari *Spirulina* adalah *Gamma Linoleic Acid* (GLA) sekitar 25-60% dari total lemak. *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) atau asam lemak esensial dalam *Spirulina* sekitar 1,3-15% dari lemak total (6-

6,5) (Christwardana, *et al.*, 2013). γ -asam linoleat (GLA) berfungsi dalam penurunan kolesterol (Farihah, *et al.*, 2014).

c. Kandungan Pigmen

Fikosianin, allo-fikosianin, dan fikoeritrin merupakan senyawa fikobiliprotein yang terdapat dalam *Spirulina platensis*. Kandungan tertinggi yaitu fikosianin. Fikosianin bersifat antioksidan dan antiinflamatori. Terdapat 280 mg fikoeritrin (merah) dan 813 mg fikosianin (biru) pada setiap 10 gram *Spirulina platensis* (Farihah, *et al.*, 2014).

d. Kandungan Vitamin

Spirulina mengandung karotenoid yang tinggi. Karotenoid tertinggi yang ditemukan pada *Spirulina* adalah betakarotein yang dapat dikonversi menjadi vitamin A dan B, sehingga kandungan gizi pada *Spirulina* sama dengan kandungan gizi yang terdapat pada 100 g sayuran segar (Christwardana, *et al.*, 2013).

2.3.5 Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (LPS) merupakan komponen dari membran luar pada bakteri gram negatif dan *cyanobacteria*. Selubung sel gram negatif memiliki 2 membran: membran sitoplasma dan membran luar. Molekul LPS endotoksik yang ada pada membran luar menutup hingga $\frac{3}{4}$ dari total permukaan sel. Selubung sel spesies *cyanobacteria* menunjukkan kemiripan besar secara keseluruhan dengan bakteri gram negatif. Molekul LPS dalam bakteri gram negatif laut serta *cyanobacteria* berkontribusi besar terhadap struktur organisme dan memberikan perlindungan dari senyawa antimikroba. LPS dari *Spirulina platensis* memiliki asam lemak tak jenuh, 3-hydroxy myristate dan karbohidrat, hexose, heptose, asam octolusonic, dan glukosamin. LPS *Spirulina platensis* terdiri dari 1,6% berat kering seluler (Torabene, *et al.*, 1985).

Seluruh karbohidrat dan lemak mewakili hampir seluruh dari total LPS. Struktur LPS pada *cyanobacteria*, penelitian mengenai gula menunjukkan adanya KDO (*keto-deoxyoctulosonate*), glukosa, rhamnosa, fukosa, ribosa, xilosa, manosa, galaktosa, inositol, *D-glycerol-D-manno-heptose*, *D-glycerol-L-manno-heptose*, dan 3- atau 4-*O-methyl hexose*. Penelitian lipid ditemukan *digalactosyl diacylglycerol* dan *phosphatidyl diacylglycerol*. Gliserol ditemukan di *hydrolysate*. Glukosamin adalah satu-satunya gula amino yang terdeteksi. Jumlah kecil dari 3-OH-C₁₆ juga terdeteksi. *Lyso-forms* dari *digalactosyl diacylglycerol*, dan *phosphatidyl diacyl glycerol* yang sebelumnya tidak teridentifikasi. Adanya bagian besar dari C₁₈ asam lemak tak jenuh merupakan ciri tidak umum pada prokariot. LPS *cyanobacteria* dapat menimbulkan reaksi negatif pada respon imun LPS gram negatif. Perbedaan struktural utama dalam LPS *cyanobacteria* adalah rantai panjang asam lemak di daerah lipid A dan kurangnya *heptose*, fosfat, dan KDO di bagian inti oligosakarida (Durai, *et al.*, 2015).

Menurut Pelizer, *et al.* (2002), kandungan lipopolisakarida pada *Spirulina* dapat digunakan sebagai immunostimulan yang potensial dalam meningkatkan respon kekebalan tubuh. Komponen utama dinding sel *Spirulina* sama dengan dinding sel bakteri gram negatif yang mengandung lipopolisakarida dan peptidoglikan. Lipopolisakarida terdiri dari lipid A, polisakarida O (antigen) dan inti polisakarida. Polisakarida dan inti polisakarida merupakan antigen permukaan yang dapat menginduksi kekebalan spesifik dan non spesifik. Komposisi kimia lipopolisakarida *Spirulina platensis* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia lipopolisakarida *Spirulina platensis* (Torabene, *et al.*, 1985)

Komponen	Total (%)
<i>Glyserol</i>	7,4
<i>Glucose</i>	7,5
<i>Rhamnose</i>	17,1

<i>Fucose</i>	3,3
<i>Ribose</i>	8,1
<i>Xylose</i>	4,5
3 atau 4- <i>O-Methyl hexose</i>	8,1
<i>Mannose</i>	1,9
<i>Galactose</i>	8,2
<i>Inositol</i>	6,0
<i>D-Glycero-D-mannoheptose</i>	1,6
<i>D-Glycero-L-mannoheptose</i>	3,7
Tidak teridentifikasi	22,6
<i>Heptose</i>	1,4
3- <i>Deoxy-D-manno-octulosonic acid</i>	1,2
<i>D-Glucosamine</i>	2,1
Total karbohidrat	31,6
Total asam lemak	14,3
<i>Phosphate</i>	0,6
<i>Nucleic acids</i>	0
Protein	0,6

2.4 Bahan Penyusun Pakan

2.4.1 Tepung Ikan

Tepung ikan merupakan bahan makanan pokok ikan yang digunakan sebagai sumber protein hewani dan mineral, terutama kalsium dan fosfor. Tepung ikan mengandung protein yang memiliki kualitas jauh lebih baik karena mengandung asam-asam amino yang diperlukan, terutama methionin dan lisin. Protein yang terkandung dalam tepung ikan ini sangat tergantung pada sumber tepung ikan (seperti sisa industri pengalengan, ikan rucah, atau ikan rucah besar), serta teknik pembuatan dan pengolahannya (Murtidjo, 2001).

2.4.2 Tepung Bungkil Kedelai

Kedelai dan bungkil kedelai merupakan bahan pakan yang potensial sebagai sumber nabati, karena kandungan proteinnya paling tinggi dibandingkan dengan semua jenis bahan makanan asal tumbuhan. Kedelai dan bungkil kedelai mudah dicerna, serta memiliki kandungan asam-asam amino yang tinggi, kecuali asam amino cistin (Murtidjo, 2001).

2.4.3 Tepung *Spirulina*

Menurut Christwardana, *et al.* (2013), *Spirulina platensis* sengaja dipilih sebagai sumber makanan masa depan oleh *International Association of Applied Microbiology* karena sebagai sumber mikronutrien dan mengandung protein yang tinggi (55-70%), serta disebut sebagai protein sel tunggal (PST). Menurut Utomo, *et al.* (2007), substitusi tepung ikan menggunakan protein sel tunggal (PST) merupakan salah satu upaya untuk mengurangi ketergantungan industri pakan ikan terhadap tepung ikan. PST merupakan bahan dengan kandungan nutrisi yang setara atau mendekati bahan yang akan disubstitusi, jumlahnya mencukupi dan tersedia secara berkelanjutan. PST memiliki kandungan protein yang tinggi (sekitar 50%), serta memiliki nilai *essential amino acid index* (EAAI) yang mendekati nilai EAAI tepung ikan.

2.4.4 Minyak Ikan

Minyak ikan memiliki kemampuan sebagai imunostimulan bagi udang, karena mampu meningkatkan daya tahan tubuh udang. Peningkatan tersebut dapat menyebabkan meningkatnya proses fagositosis. Asam lemak omega-3 bervariasi tergantung jenis ikan. Komposisi minyak ikan laut lebih kompleks dan mengandung asam lemak tak jenuh rantai panjang yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan ikan air tawar (Indraswati, *et al.*, 2014).

2.4.5 Vitamin *mix*

Penambahan vitamin ke dalam pakan buatan umumnya dilakukan dengan menggunakan vitamin *mix* (*premix*). *Premix* diformulasi untuk menyediakan vitamin atau mengganti vitamin yang tidak tersedia secara lengkap atau vitamin yang hilang selama proses pembuatan pada bahan pakan (Afrianto dan Liviawaty, 2005).

2.4.6 Bahan Perekat

CMC merupakan bahan baku yang dipakai sebagai bahan perekat pakan udang. Bahan perekat pada pakan udang dibutuhkan untuk mencegah kerusakan bentuk pelet. Salah satu karakter pakan untuk udang adalah memiliki daya stabilitas yang tinggi dalam air, oleh karena itu dibutuhkan bahan perekat (binder) ke dalam campuran bahan pakan (Wulansari, *et al.*, 2016).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Pembuatan pakan uji menggunakan timbangan, oven, dan mesin penggiling dengan diameter cetakan 2 mm. Uji biologis dilakukan menggunakan peralatan milik Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Peralatan yang digunakan yaitu akuarium 60x30x30 cm, aerator set, jaring hitam, seser, kontainer plastik, timba, gayung, dan selang selama masa pemeliharaan. Peralatan yang digunakan untuk uji darah yaitu pipet tetes, mikropipet, *object glass*, *cover glass*, *haemocytometer*, *microtube* 1 ml, *syringe* 1 ml, dan mikroskop elektron. Uji kualitas air menggunakan pH meter, DO meter, dan refraktometer milik Laboratorium Fisika Kimia dan Lingkungan BBPBAP Jepara.

3.1.2 Bahan Penelitian

Hasil formula pakan tersusun dari tepung *Spirulina platensis*, tepung ikan, tepung bungkil kedelai, tepung tapioka, minyak ikan, *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), vitamin dan mineral. Bahan pembuatan pakan berasal dari bagian pakan buatan BBPBAP Jepara, sedangkan tepung *Spirulina platensis* yang digunakan dalam pembuatan pakan berasal dari Laboratorium Pakan Alami BBPBAP Jepara. Pakan uji dibuat dengan kandungan protein 35% dan isoenergi 3,4 kkal. Uji biologis menggunakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) berat $4,55 \pm 0,07$ gram, dipelihara dalam media air laut salinitas 29 ppt dengan kepadatan 13 ekor per akuarium dan diaerasi. Bahan untuk pengamatan hemosit meliputi sodium sitrat, akuades, etanol, dan giemsa didapatkan dari Laboratorium Manajemen Kesehatan Akuatik BBPBAP Jepara.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Menurut Nazir (2005), metode eksperimen yaitu suatu metode yang mengadakan kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel yang diselidiki. Tujuan eksperimen ini adalah untuk menemukan hubungan sebab akibat antar variabel. Menurut Hanafiah (2008), percobaan dapat menentukan berhasil tidaknya pemecahan yang ditawarkan untuk mengatasi permasalahan.

3.3 Pengambilan Data

Proses pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Raco (2010), observasi adalah bagian dalam pengumpulan data secara langsung dari lapang. Data observasi dapat berupa gambaran tentang sikap, kelakuan, perilaku, tindakan, keseluruhan interaksi.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan formulasi pakan (Tabel 2).

Tabel 2. Perlakuan Penelitian

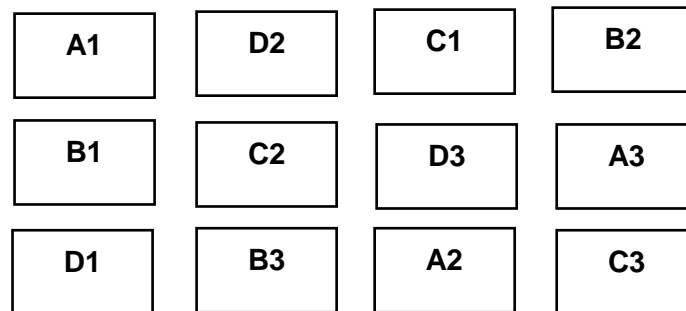
Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3
D	D1	D2	D3

Keterangan :

A : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 0% terhadap protein tepung ikan
B : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 2,5% terhadap protein tepung ikan
C : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 5% terhadap protein tepung ikan
D : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 7,5% terhadap protein tepung ikan

Formula pakan uji dibuat sesuai dengan Gadelha, *et al.* (2013), menggunakan protein 35% dan isoenergi 3,4 kkal. Perlakuan menggunakan tepung *Spirulina platensis*. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Pakan kontrol tanpa menggunakan tepung *Spirulina platensis* dibandingkan dengan tiga formula pakan menggunakan tepung *Spirulina platensis*.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 10 berikut ini :



Gambar 10. Denah penelitian substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap protein tepung ikan pada pakan buatan

Keterangan:

A-B-C-D : perlakuan
1,2,3 : ulangan

Berdasarkan penelitian Jaime-Ceballos, *et al.* (2005), substitusi protein *Spirulina platensis* dengan dosis 5% merupakan hasil terbaik, seperti penggunaan pakan yang mengandung nauplii *Artemia* pada *Litopenaeus schmitti*. Empat perlakuan uji formula pakan diamati pengaruhnya terhadap jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Pakan Uji

Pembuatan pakan uji (Lampiran 1) dilakukan dengan menyiapkan bahan-bahan pakan seperti Tepung ikan, tepung bungkil kedelai, tepung *Spirulina platensis*, tepung tapioka, minyak ikan, *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), vitamin dan mineral *mix*. Tepung ikan, tepung bungkil kedelai, tepung *Spirulina platensis*,

dan tepung tapioka ditimbang dan dilakukan analisis proksimat di Laboratorium Residu dan Lingkungan Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Hasil analisis proksimat bahan pakan (Tabel 3) digunakan sebagai dasar dalam menyusun formula pakan uji. Formula pakan uji merupakan modifikasi dari penelitian Lestari, *et al.* (2014), formulasi pakan untuk udang vaname.

Tabel 3. Komposisi bahan pakan uji untuk udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Bahan	Kadar Kering (%) [*]	Protein (%) [*]	Lemak (%) [*]	Abu (%) [*]	Serat Kasar (%) [*]	BETN [*]	Energi (kkal/gr) ^{**}
Tepung Ikan [*]	91,73	53,21	5,07	30,43	0,00	3,02	2,71
Tepung Bungkil Kedelai [*]	89,56	45,09	0,84	6,84	3,33	33,46	3,22
Tepung <i>S. platensis</i> [*]	95,62	60,35	2,11	12,30	3,40	17,46	3,30
Tepung Tapioka [*]	83,38	1,22	0,00	0,15	0,00	82,01	3,33

Keterangan:

* : Hasil analisis Laboratorium Residu dan Lingkungan Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara

** : Energi = (4 x %Protein) + (9 x %Lemak) + (4 x %BETN) (Ramli, 2015)

Tabel 4. Percobaan formulasi pakan untuk udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Bahan (%)	Perlakuan Dosis			
	A	B	C	D
Tepung Ikan	39,47	37,82	36,18	34,53
Tepung Bungkil Kedelai	31,05	31,05	31,05	31,05
Tepung <i>Spirulina platensis</i>	0,00	1,45	2,90	4,35
Tepung Tapioka	15,72	15,61	15,51	15,41
Minyak Ikan	9	9	9	9
Vitamin <i>mix</i>	4	4	4	4
CMC	0,77	1,07	1,36	1,66
Total	100	100	100	100

Keterangan:

A : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 0% terhadap protein tepung ikan

B : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 2,5% terhadap protein tepung ikan

C : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 5% terhadap protein tepung ikan

D : Substitusi protein tepung *Spirulina platensis* 7,5% terhadap protein tepung ikan

Masing-masing bahan ditimbang sesuai dengan formula pakan uji (Tabel 4) yang telah ditentukan. Tepung ikan, tepung bungkil kedelai, tepung *Spirulina platensis*, tepung tapioka, CMC, vitamin dan mineral *mix* dicampurkan sampai merata. Air panas ditambahkan perlahan hingga tercampur rata dengan maksimal 30% dari komposisi bahan. Bahan dicetak dan dikeringkan selama 24 jam dengan temperatur 60°C. Pakan uji yang telah kering kemudian di *crumble*, serta ditambahkan minyak ikan sesuai komposisi formula pakan uji. Pakan uji dianalisis proksimat untuk mengetahui nutrisi yang terkandung beserta kadarnya.

3.5.2 Pelaksanaan Uji Biologis

Uji biologis menggunakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang telah diaklimatisasi selama 7 hari terhadap lingkungan dan pakan. Udang dipuasakan sehari sebelum dihitung sebagai masa pemeliharaan. Udang ditimbang untuk mengetahui berat awal, kemudian udang ditebar dengan berat seragam pada akuarium dengan air bersalinitas 29 ppt setinggi 22 cm. Kepadatan udang pada setiap akuarium sebanyak 13 ekor. Setiap akuarium diberikan aerasi 24 jam.

Pemberian pakan selama penelitian dilakukan sebanyak 3 kali sehari. Pakan diberikan sebanyak 5% dari berat biomassa udang pada pukul 09.00 WIB, 15.00 WIB, dan 21.00 WIB. Berdasarkan penelitian Ekawati. *et al.* (2012), sebanyak 30%, 30%, dan 40% dari jumlah pemberian pakan sehari. Jumlah total hemosit dan total hemosit diferensial diamati setiap 10 hari, sedangkan aktivitas fagositosis dilakukan pada akhir pemeliharaan sebelum diinfeksi atau hari ke 30.

Menurut Kaligis (2015), untuk mempertahankan kualitas media pemeliharaan, sisa pakan dan kotoran dikeluarkan dari media dengan cara

disifon setiap pagi hari sebelum pemberian pakan. Pergantian air pada akuarium dengan media baru sebanyak 80% dilakukan setiap hari.

3.5.3 Penginfeksian Bakteri

Udang vaname yang telah dilakukan pemeliharaan selama 30 hari, dilakukan penginfeksian dengan bakteri *Vibrio harveyi*. Bakteri *Vibrio harveyi* yang digunakan berasal dari Laboratorium Manajemen Hewan Akuatik BBPBAP Jepara. Udang disuntik dengan bakteri yang telah dikultur dengan kepadatan 10^5 CFU/ml sebanyak 0,1 ml menggunakan *syringe* 1 ml. Bakteri disuntikkan pada segmen kedua abdominal udang (*intra muscular*).

Menurut Kurniawan, *et al.* (2014), *Vibrio harveyi* menyebabkan kematian udang pada jam ke-12 dengan konsentrasi 10^5 CFU/ml. Kepadatan 10^5 CFU/ml bakteri *Vibrio harveyi* mampu bersifat patogen di alam. Tingkat patogenitas dengan konsentrasi 10^5 CFU/ml mencapai 33,33%.

3.6 Parameter Penelitian

3.6.1 Parameter Utama

a. Jumlah Total Hemosit atau *Total Haemocyte Count* (THC)

Prosedur pengamatan jumlah total hemosit berdasarkan Blaxhall dan Daishley (1973), hemolim diambil menggunakan *syringe* 1 ml pada bagian kaki jalan kelima dan ditambahkan antikoagulan (sodium sitrat 10%). Perbandingan antikoagulan dengan hemolim 1:1, kemudian dihomogenkan di dalam *microtube*. Hemosit kemudian dihitung menggunakan *haemocytometer* dengan alat bantu mikroskop (perbesaran 400x). Hemosit dihitung menggunakan rumus:

$$\text{THC (sel/ml)} = \sum \text{sel hitung} \times \frac{1}{\text{volume kotak besar}} \times \text{FP} \times 1000$$

Keterangan :

FP = Faktor Pengenceran

b. Total Hemosit Diferensial atau *Differential Haemocyte Count* (DHC)

Prosedur pengamatan total hemosit diferensial berdasarkan Amlacher (1970), hemolim diambil menggunakan *syringe* 1 ml pada bagian kaki jalan ketiga dan ditambahkan antikoagulan (sodium sitrat 10%). Perbandingan antikoagulan dengan hemolim 1:1, kemudian dihomogenkan di dalam *microtube*. Hemolim kemudian ditetaskan pada objek glass yang bersih (telah direndam etanol 95%), lalu preparat diulas. Preparat difiksasi dengan etanol 95% selama 5 menit dan diwarnai dengan giemsa 10% selama 30 menit. Preparat diamati menggunakan mikroskop (perbesaran 600x). DHC dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Jenis Sel Hemosit (\%)} = \frac{\sum \text{tiap jenis hemosit}}{\text{total hemosit}} \times 100\%$$

c. Aktivitas Fagositosis

Prosedur pengamatan aktivitas fagositosis berdasarkan penelitian Fatimah, *et al.* (2015), 50 μl *Vibrio harveyi* kepadatan 10^7 cfu/ml dimasukkan ke dalam *microtube* dan ditambahkan 50 μl hemolim, kemudian diinkubasi 20 menit. Preparat diulas pada objek glass, selanjutnya difiksasi dengan etanol 95% selama 5 menit dan diwarnai dengan giemsa 10% selama 30 menit. Preparat diamati menggunakan mikroskop (perbesaran 600x). Fagositosis dihitung menggunakan rumus:

$$\text{AF} = \frac{N}{100} \times 100$$

Keterangan :

N = Total proses fagositosis yang dilakukan oleh sel fagosit dari 100 sel fagosit yang dihitung

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Gejala klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan pada awal dan akhir ujiantang. Dilakukan pengamatan apabila terjadi perubahan pada tingkah laku dan

morfologi udang. Perubahan tingkah laku seperti respon terhadap pakan yang menurun. Perubahan morfologi seperti telson memerah, nekrosis pada ekor (uropod), melanosis pada segmen tubuh.

b. Kualitas Air

Kualitas air media pemeliharaan dicek 2 kali sehari pada pagi hari (08.00 WIB) dan sore hari (14.00 WIB), pengecekan kualitas air meliputi oksigen terlarut, temperatur, dan pH. Oksigen terlarut dan temperatur dicek menggunakan DO meter (YSI 550A), sedangkan pH dicek menggunakan pH meter digital (Wilmaukee pH55). Salinitas pada media dicek menggunakan refraktometer (Atago master 53 Pa). Air sampel diambil pada pertengahan (hari ke 15) dan akhir (hari ke 30) masa pemeliharaan udang vaname untuk dicek total konsentrasi amonia di Laboratorium Fisika, Kimia, dan Lingkungan BBPBAP Jepara.

3.7 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian meliputi paramater utama (jumlah total hemosit, total hemosit diferensial, dan aktivitas fagositosis) dan parameter penunjang (gejala klinis dan kualitas air). Seluruh parameter kecuali parameter gejala klinis dilakukan analisis data menggunakan SPSS versi 16.00. Analisis data yang dilakukan meliputi normalitas, homogenitas, uji beda nyata terkecil (BNT) atau *Least Significant Difference* (LSD), Duncan, dan regresi. Data parameter gejala klinis dianalisis secara deskriptif.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

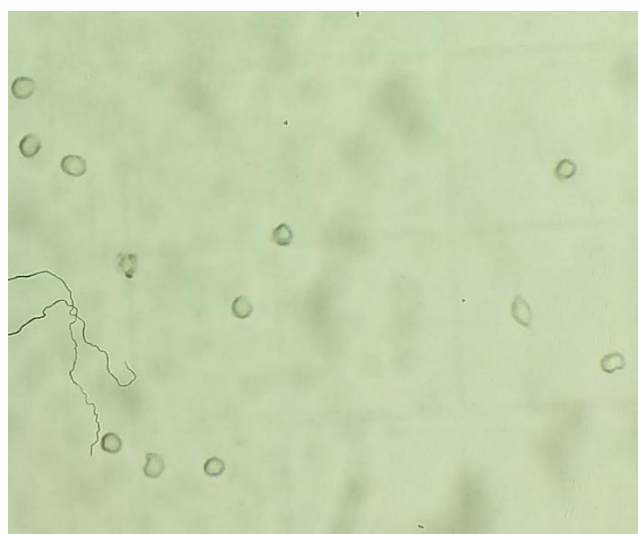
4.1 Jumlah Total Hemosit atau *Total Haemocyte Count* (THC)

Nilai jumlah total hemosit hasil penelitian selama masa pemeliharaan 30 hari dengan pakan uji sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi* dan sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi* disajikan pada Tabel 5 dan Lampiran 3. Hemosit pada udang vaname disajikan pada Gambar 11.

Tabel 5. Data rerata jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi *V. harveyi*

		THC (x 10 ⁶ sel/ml)			
		Perlakuan			
		A	B	C	D
Sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>					
	0	34,20 ± 0,65	35,90 ± 4,12	35,15 ± 1,25	35,65 ± 0,98
Hari	10	36,85 ± 2,91	35,65 ± 5,24	36,70 ± 5,50	33,55 ± 1,47
	20	38,10 ± 1,97	34,45 ± 2,98	36,10 ± 1,96	34,50 ± 1,73
	30	33,60 ± 6,05	35,70 ± 5,16	37,55 ± 3,41	41,65 ± 1,00
Setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i>					
Waktu (jam)	24	8,93 ± 0,53	7,43 ± 1,43	13,32 ± 0,57	15,08 ± 0,79
	48	11,30 ± 0,83 ^a	15,30 ± 1,23 ^a	15,38 ± 3,38 ^a	32,18 ± 6,23 ^b

Keterangan : Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan pada selang kepercayaan (95%)



Gambar 11. Hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan pembesaran 400x

4.1.1 THC Sebelum Diinfeksi *Vibrio harveyi*

Data jumlah total hemosit setelah diberi pakan uji selama 30 hari (Lampiran 3) kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebelum dilakukan ANOVA. Nilai signifikansi pada setiap perlakuan (Lampiran 4) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan variansi setiap sampel sama atau homogen. Hasil ANOVA THC udang vaname (Lampiran 5) menunjukkan F hitung lebih kecil dari F tabel 1% dan 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan berupa substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan memberikan pengaruh tidak nyata terhadap jumlah total hemosit udang vaname, hal ini sesuai dengan penelitian Putri, *et al.* (2013), senyawa aktif yang terkandung dalam *Spirulina* sp. hanya mempertahankan jumlah total hemosit dalam kondisi sehat dan tidak mengalami stres.

Berdasarkan data hasil pengamatan jumlah total hemosit (Tabel 5) yang telah dilakukan pada hari ke-10, THC udang vaname yang diberi perlakuan B dan D mengalami penurunan, sedangkan perlakuan C mengalami penurunan pada hari ke-20. Hal tersebut diduga sebagai respon hemosit terhadap *Spirulina platensis* pada pakan uji, tubuh udang vaname masih beradaptasi terhadap *Spirulina platensis* pada pakan.

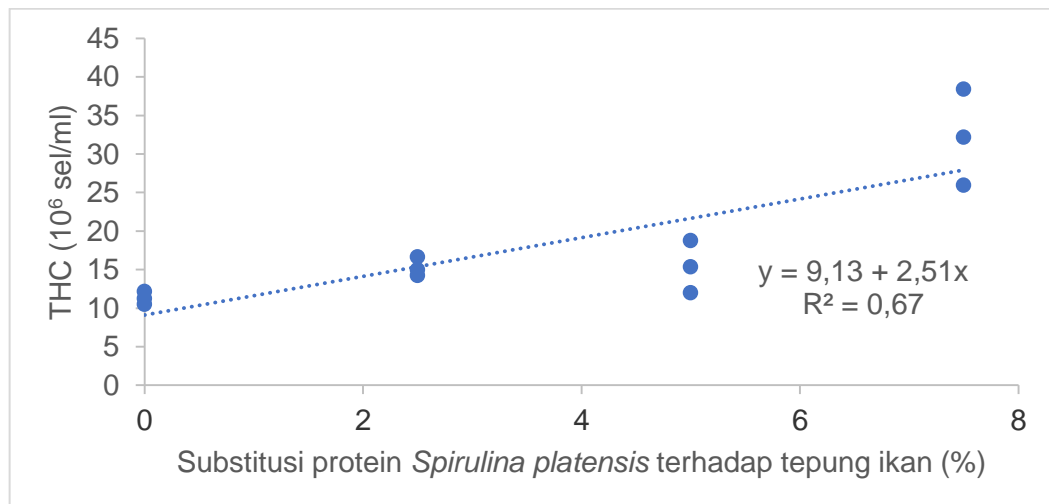
Jumlah total hemosit pada perlakuan B, C, dan D menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pada pengamatan hari ke-30, selain itu jumlah total hemosit perlakuan B, C, dan D lebih tinggi daripada perlakuan A. Peningkatan jumlah total hemosit tersebut merupakan respon sistem kekebalan tubuh yang meningkat karena pemberian pakan uji.

Menurut Putri, *et al.* (2013), awal pemberian *Spirulina* sp. pada pakan akan menyebabkan penurunan hemosit, akan tetapi hemosit akan menunjukkan peningkatan pada hari ke-20 dan hari ke-30 sebagai respon dari kekebalan tubuh

udang. Hemosit sebagai pertahanan tubuh udang, apabila penyebaran dan peningkatan terjadi maka diasumsikan sebagai bentuk respon imun seluler pada tubuh udang.

4.1.2 THC Setelah Diinfeksi *Vibrio harveyi*

Data jumlah total hemosit pasca pemberian pakan uji dan diinfeksi *Vibrio harveyi* kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebelum dilakukan ANOVA. Nilai signifikansi pada setiap perlakuan (Lampiran 6) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan variansi setiap sampel sama atau homogen. Hasil ANOVA THC udang vaname setelah diinfeksi *Vibrio harveyi* 48 jam menunjukkan F hitung lebih besar dari F tabel 1% dan 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa perlakuan berupa substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap jumlah total hemosit udang vaname setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi*, kemudian dilakukan uji LSD dan Duncan yang disajikan pada Lampiran 7.



Gambar 12. Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan dengan jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi*

Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan (X) dengan jumlah total hemosit udang vaname (Y) setelah 48 jam diinfeksi

Vibrio harveyi berpola linear dengan persamaan (Gambar 12):

$$Y = 9,13 + 2,51 X; R^2 = 0,67$$

Substitusi protein *Spirulina platensis* 7,5% terhadap tepung ikan dalam pakan buatan mempengaruhi rerata jumlah total hemosit tertinggi setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi*, yaitu sebesar $32,18 \times 10^6$ sel/ml.

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 5, jumlah total hemosit udang vaname pada seluruh perlakuan mengalami penurunan setelah uji tantang dengan bakteri *Vibrio harveyi* selama 24 jam, kemudian setelah 48 jam mengalami peningkatan pada seluruh perlakuan terutama perlakuan D. Lipopolisakarida pada *Spirulina platensis* merangsang aktivitas sel-sel hemosit pada udang sebagai upaya untuk melawan patogen yang masuk dalam tubuh udang selama masa pemeliharaan. Menurut Lin, *et al.* (2010), ekstrak air panas *Spirulina platensis* terbukti meningkatkan jumlah total hemosit udang vaname.

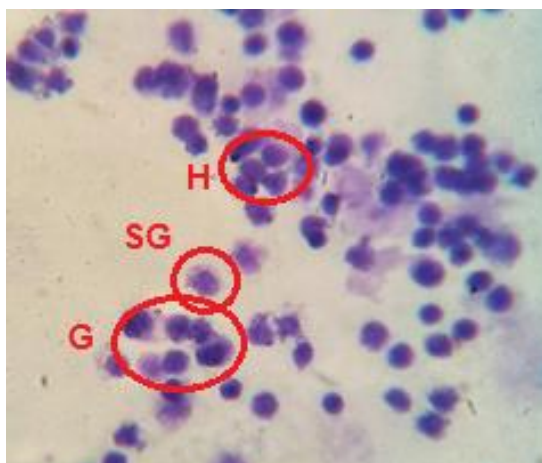
Menurut Söderhäll dan Cerenius (1992), invertebrata memiliki sel-sel efektor primitif sehingga akan mengenali pola molekuler daripada struktur khusus dari organisme mikro yang menyerang. Molekul yang berhubungan dengan patogen adalah lipopolisakarida. Protein pengikat lipopolisakarida dan atau β 1,3 glukan yaitu LBP, GBP, atau LGBP, kemudian dimediasi oleh interaksi *Pattern Recognition Proteins* (PRPs).

Berdasarkan penelitian Amparyup, *et al.* (2012), tingkat transkripsi LGBP udang windu (*P. monodon*) meningkat setelah 24 jam diuji menggunakan *V. harveyi*, sehingga dilakukan pengamatan setelah 24 dan 48 jam diinfeksi dengan *V. harveyi*. Menurut Cheng, *et al.* (2005), dari dua tempat N-glycosylation yang ditemukan diduga LGBP udang merupakan glikoprotein. Homolog ini pada LGBP *L. vannamei* diurutkan untuk *Pattern Recognition Proteins* (PRPs) dari krustase decapoda lainnya menunjukkan peran penting dalam mengenali patogen.

Menurut Lee dan Söderhäll (2002), PRPs adalah molekul yang memicu sistem proPO, karena mereka mengikat komponen dan kemudian menginduksi aktivasi proteinase di sistem proPO. sistem pengaktifan proPO merupakan sistem kekebalan yang efisien untuk pengenalan diri dan dimulai dengan pengenalan pada lipopolisakarida atau peptidoglikan dari bakteri dan β 1,3 glukukan dari jamur, kemudian proPO secara proteolitik dikonversi menjadi PO oleh tripsin endogen yang disebut *prophenoloxidase activating enzyme* (ppA). Senyawa PO merupakan langkah awal dalam kaskade biokimia biosintesis melanin. Senyawa PO ada sebagai zimogen tidak aktif di bawah kondisi fisiologis normal dan mereka dapat diaktifkan oleh infeksi mikroba (memicu kaskade proteolitik).

4.2 Total Hemosit Diferensial atau *Differential Haemocyte Count* (DHC)

Nilai total hemosit diferensial hasil penelitian selama masa pemeliharaan 30 hari dengan pakan uji sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi* dan sesudah diinfeksi *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Tabel 6 dan Lampiran 8. Jenis sel hemosit pada udang vaname dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Jenis sel hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan pembesaran 400x

Keterangan:

H = Hemosit sel hyalin

SG = Hemosit sel semigranular
G = Hemosit sel granular

Tabel 6. Data rerata total hemosit diferensial udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi *V. harveyi*

		DHC (%)			
Jenis Sel Hemosit		Perlakuan			
		A	B	C	D
Sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i>					
Hari ke- 0	H	56,00 ± 5,29	56,00 ± 7,94	58,33 ± 8,96	60,33 ± 6,51
	SG	26,67 ± 5,03	17,67 ± 5,86	17,00 ± 2,65	15,67 ± 5,69
	G	17,33 ± 1,15	26,33 ± 2,08	24,67 ± 6,43	24,00 ± 2,00
Hari ke- 10	H	46,00 ± 2,00	56,67 ± 10,07	66,33 ± 2,52	66,67 ± 3,06
	SG	27,67 ± 7,09	16,00 ± 10,00	14,00 ± 3,46	12,00 ± 2,00
	G	26,33 ± 8,50	27,33 ± 1,53	19,67 ± 1,53	21,33 ± 2,31
Hari ke- 20	H	32,00 ± 7,00	26,33 ± 1,53	29,67 ± 10,26	21,67 ± 4,73
	SG	32,33 ± 9,50	37,67 ± 1,53	35,33 ± 11,72	43,00 ± 2,65
	G	35,67 ± 10,79	34,00 ± 2,00	35,00 ± 2,00	35,33 ± 3,06
Hari ke- 30	H	54,00 ± 1,00 ^b	53,00 ± 1,00 ^b	52,00 ± 5,00 ^b	41,00 ± 1,00 ^a
	SG	15,33 ± 1,53	13,00 ± 1,00	12,33 ± 2,08	12,00 ± 1,00
	G	30,67 ± 2,52 ^a	34,00 ± 2,00 ^a	35,67 ± 3,79 ^b	47,00 ± 1,00 ^c
Setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i>					
24 jam	H	34,00 ± 1,00	26,67 ± 1,53	17,00 ± 1,00	15,67 ± 2,52
	SG	11,00 ± 1,00	12,33 ± 1,53	13,67 ± 1,53	14,33 ± 1,53
	G	55,00 ± 1,00	61,00 ± 1,00	70,00 ± 1,00	72,00 ± 2,00
48 jam	H	29,00 ± 2,65 ^c	27,00 ± 1,00 ^b	25,33 ± 2,08 ^b	19,00 ± 1,00 ^a
	SG	12,33 ± 1,53	12,67 ± 1,53	13,00 ± 2,00	13,33 ± 4,16
	G	58,67 ± 3,06 ^a	60,33 ± 1,53 ^a	61,67 ± 2,52 ^a	67,67 ± 4,93 ^b

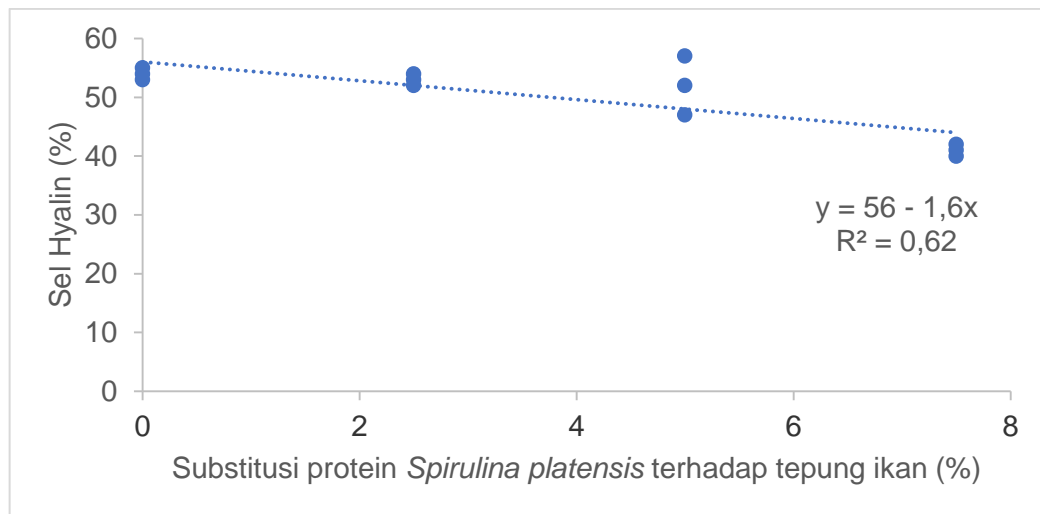
Keterangan : Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan pada selang kepercayaan (95%)

4.2.1 DHC Sebelum Diinfeksi *Vibrio harveyi*

Data Tabel 6. kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebelum dilakukan analisis ANOVA. Nilai signifikansi sel hyalin, semi granular, dan granular pada setiap perlakuan (Lampiran 9) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan variansi setiap sampel sama atau homogen.

Hasil ANOVA DHC udang vaname (Lampiran 10) menunjukkan hasil perlakuan berupa substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan memberikan pengaruh tidak nyata terhadap sel semi granular udang vaname.

Hasil sel hyalin dan sel granular memberikan pengaruh sangat nyata, kemudian dilakukan uji LSD dan Duncan yang disajikan pada Lampiran 10.

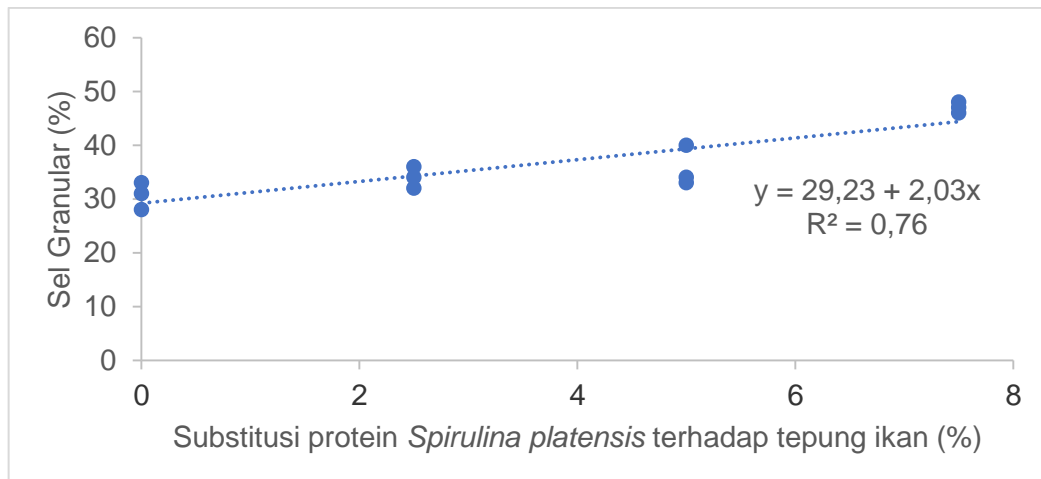


Gambar 14. Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan dengan jumlah sel hyalin udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebelum diinfeksi *V. harveyi*

Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan (X) dengan jumlah sel hyalin udang vaname (Y) sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi* berpola linear dengan persamaan (Gambar 14):

$$Y = 56 - 1,6 X; R^2 = 0,62$$

Substitusi protein *Spirulina platensis* 0% terhadap tepung ikan pada pakan buatan mempengaruhi rerata sel hyalin tertinggi setelah 30 hari, yaitu sebesar 54%.



Gambar 15. Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan dengan jumlah sel granular udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) sebelum diinfeksi *V. harveyi*

Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan (X) dengan jumlah sel granular udang vaname (Y) sebelum diinfeksi *Vibrio harveyi* berpola linear dengan persamaan (Gambar 15):

$$Y = 29,23 + 2,03 X; R^2 = 0,76$$

Substitusi protein *Spirulina platensis* 7,5% terhadap tepung ikan pada pakan buatan mempengaruhi rerata sel granular tertinggi setelah 30 hari, yaitu sebesar 47%.

Berdasarkan hasil pengamatan total hemosit diferensial (Lampiran 8) yang telah dilakukan pada hari ke-10, sel hyalin mengalami peningkatan pada setiap perlakuan. Terutama sel hyalin pada perlakuan D mencapai jumlah tertinggi dan sel hyalin terendah pada perlakuan A, berdasarkan penelitian Tayag, *et al.* (2010), udang vaname yang diberikan ekstrak *Spirulina platensis* mampu meningkatkan jumlah sel hyalin pada hemosit udang vaname. Hal tersebut diduga sebagai respon awal terhadap pemberian pakan uji.

Jumlah sel hyalin pada setiap perlakuan menurun pada pengamatan hari ke-20, sel semi granular meningkat pada setiap perlakuan dengan nilai tertinggi

pada perlakuan D. Menurut Söderhäll dan Cerenius (1992), sel semi granular adalah sel-sel utama yang terlibat dalam fagositosis partikel asing pada udang. Hemosit granular juga terlibat dalam fagositosis partikel asing tetapi frekuensinya lebih rendah daripada sel yang lebih kecil. Hemosit paling kecil yaitu sel hyalin.

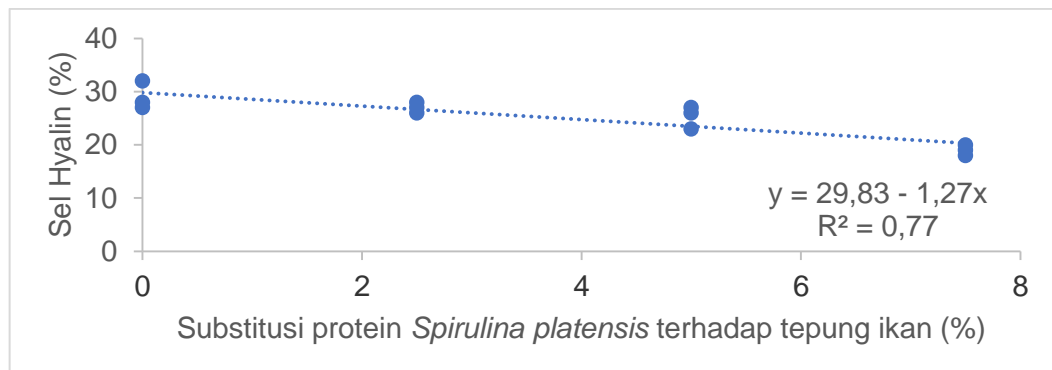
Pengamatan DHC hari ke-30, perlakuan D mengalami peningkatan pada sel granular dengan nilai tertinggi dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C. Sesuai dengan penelitian Macias-Sancho, *et al.* (2014), bahwa substitusi tepung ikan menggunakan tepung *Spirulina platensis* hingga 75% mempengaruhi respon imun dengan peningkatan jumlah hemosit sel granular sebesar 74,67%.

Lipopolisakarida (LPS) merupakan komponen dari membran luar pada bakteri gram negatif dan *cyanobacteria* (Torabene, *et al.*, 1985). Lipopolisakarida mampu meningkatkan ekspresi molekul immuno-reaktif (Braak, 2002). Menurut Rohmin, *et al.* (2017), sistem kekebalan tubuh pada udang masih primitif dan tidak seperti pada ikan serta mamalia yang berupa imunoglobulin, sehingga peran imunoglobulin pada udang digantikan dengan *Prophenoloxidase Activating Enzim* (PPA). Senyawa PPA tersebut merupakan protein yang berlokasi di sel granular hemosit.

4.2.2 DHC Setelah Diinfeksi *Vibrio harveyi*

Data total hemosit diferensial pasca pemberian pakan uji dan diinfeksi *Vibrio harveyi* (Tabel 6) kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebelum dilakukan ANOVA. Nilai signifikansi sel hyalin, semi granular, dan granular pada setiap perlakuan (Lampiran 11) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan variansi setiap sampel sama atau homogen. Hasil ANOVA DHC udang vaname setelah diinfeksi *Vibrio harveyi* 48 jam (Lampiran 12) menunjukkan hasil perlakuan berupa substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap sel hyalin,

berpengaruh nyata terhadap sel granular, dan tidak berpengaruh nyata pada sel semi granular udang vaname.

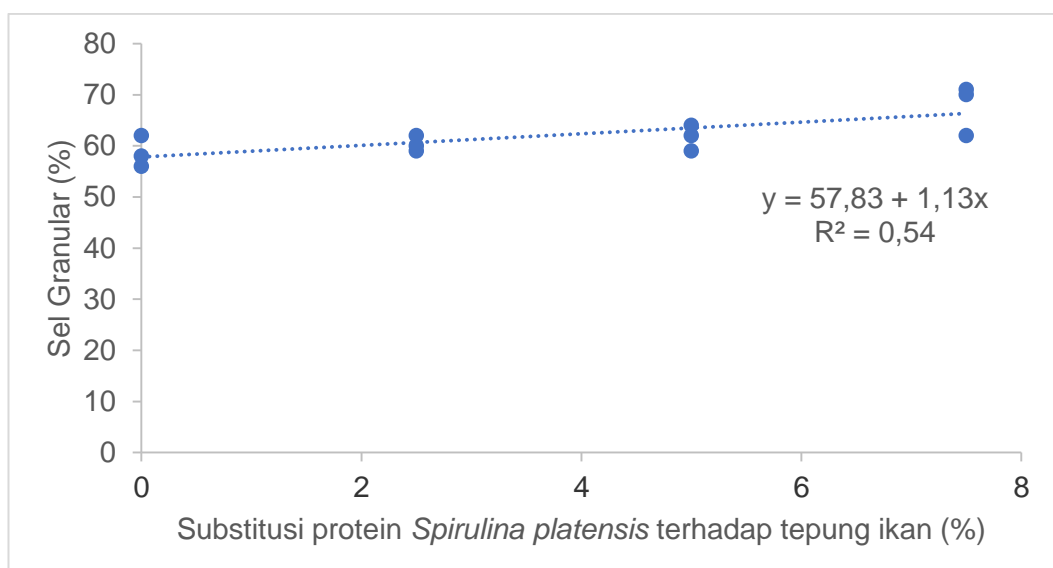


Gambar 16. Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan dengan jumlah sel hyalin udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) setelah diinfeksi *V. harveyi*

Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan (X) dengan jumlah sel hyalin udang vaname (Y) setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi* berpola linear (Gambar 16):

$$Y = 29,83 - 1,27 X; R^2 = 0,77$$

Substitusi protein *Spirulina platensis* 0% terhadap tepung ikan pada pakan buatan mempengaruhi rerata sel hyalin tertinggi setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi*, yaitu sebesar 29%.



Gambar 17. Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan dengan jumlah sel granular udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) setelah diinfeksi *V. harveyi*

Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan (X) dengan jumlah sel granular udang vaname (Y) setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi* berpola linear dengan persamaan (Gambar 17):

$$Y = 57,83 + 1,13 X; R^2 = 0,54$$

Substitusi protein *Spirulina platensis* 7,5% terhadap tepung ikan pada pakan buatan mempengaruhi sel granular tertinggi setelah 48 jam diinfeksi *Vibrio harveyi*, yaitu sebesar 67,67%.

Sel hyalin udang vaname mengalami penurunan pasca 24 jam diinfeksi dengan *V. harveyi*, akan tetapi sel hyalin pada perlakuan B, C, dan D mengalami peningkatan pasca 48 jam diinfeksi dengan *V. harveyi*. Hal tersebut diduga karena substitusi *Spirulina platensis* pada pakan uji mampu meningkatkan sel hyalin, sehingga aktivitas fagositosis meningkat.

Menurut Johanson dan Söderhäll (1989), sel hyalin berperan dalam sistem pertahanan tubuh udang. Sel hyalin ini diaktifkan oleh *Opsonin Factor* yang dihasilkan dari aktifnya pro PO menjadi PO pada sel granular, sehingga dapat memfagositosis materi asing baik bakteri maupun virus, tetapi yang paling berperan dalam sistem pertahanan tubuh udang adalah granulosit.

Menurut Lee, *et al.* (2003), degranulasi granulosit pada hemolim menunjukkan adhesi sel protein, peroxinotin, yang disimpan dalam granul pada hemosit udang, setelah dilepaskan dari sel granular, *peroxinotin* permukaan bakteri, dimana hal itu dikenali sebagai reseptor hemosit, dengan demikian meningkatkan fagositosis udang. *Spirulina* mengandung lipopolisakarida dan peptidoglikan, yang merupakan aktivator potensial makrofag. Efek stimulasi hemosit dari *Spirulina* pada pakan menyebabkan toleransi yang besar pada udang terhadap *Vibrio harveyi*.

Sel hyalin perlakuan B, C, dan D mengalami peningkatan, akan tetapi perlakuan D menunjukkan hasil paling rendah dibanding dengan perlakuan lainnya, diduga dampak dari peningkatan sel granular pada udang vaname perlakuan D, sehingga sel granular lebih dominan daripada sel hyalin. Total sel granular mengalami peningkatan pasca 24 dan 48 jam diinfeksi dengan *V. harveyi*.

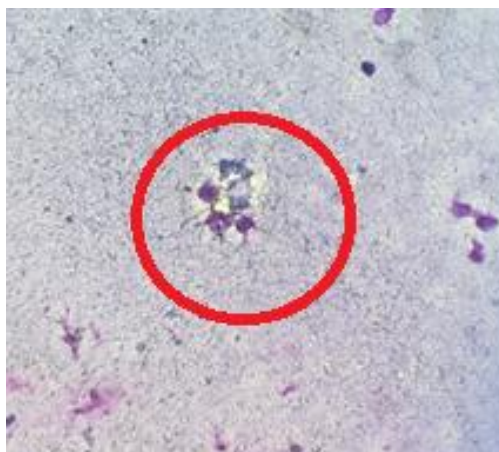
4.3 Aktivitas Fagositosis

Hasil pengamatan aktivitas fagositosis pada hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) setelah 30 hari diberi perlakuan pakan uji (Lampiran 2) dapat dilihat pada Tabel 7, sedangkan pengamatan aktivitas fagositosis pada hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dapat dilihat pada Gambar 18.

Tabel 7. Aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji selama 30 hari

Aktivitas Fagositosis (%)				
Perlakuan	Ulangan			Rerata ± SD
	1	2	3	
A	33	32	36	33,67 ± 2,08 ^a
B	38	33	39	36,67 ± 3,21 ^a
C	42	41	39	40,67 ± 1,53 ^b
D	47	42	49	46.00 ± 3,61 ^c

Keterangan : Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan, sedangkan notasi yang berbeda menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan pada selang kepercayaan (95%)

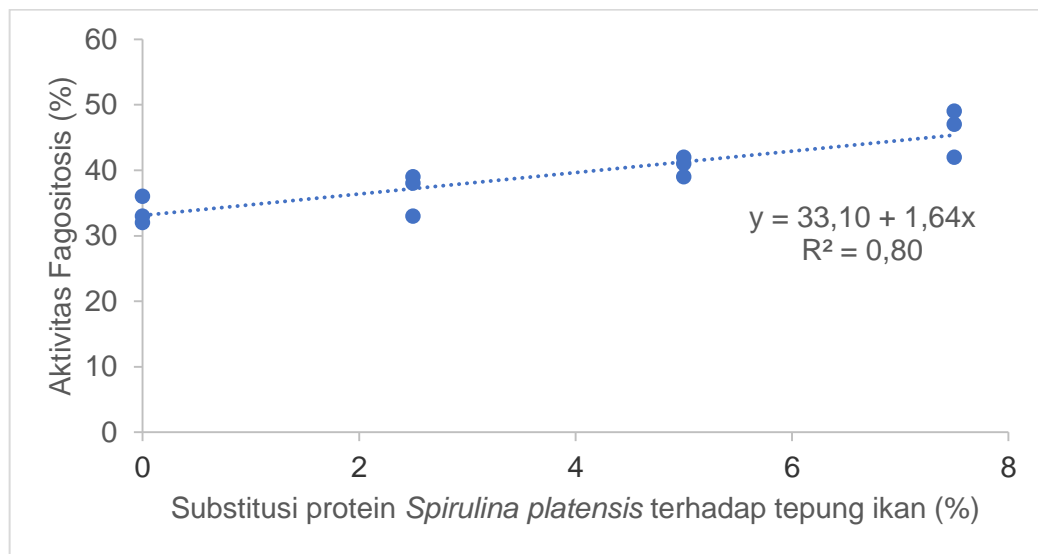


Gambar 18. Aktivitas fagositosis hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan pembesaran 400x

Data aktivitas fagositosis (Tabel 7) kemudian dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebelum dilakukan ANOVA. Nilai signifikansi pada setiap perlakuan (Lampiran 13) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan variansi setiap sampel sama atau homogen. Hasil ANOVA aktivitas fagositosis udang vaname pasca pemberian pakan uji selama 30 hari (Lampiran 14) menunjukkan hasil perlakuan berupa substitusi protein *Spirulina platensis* memberikan pengaruh sangat nyata terhadap aktivitas fagositosis udang vaname.

Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan (X) dengan aktivitas fagositosis udang vaname (Y) berpola linear dengan persamaan (Gambar 19):

$$Y = 33,10 + 1,64 X; R^2 = 0,80$$



Gambar 19. Hubungan antara substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan dengan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Substitusi protein *Spirulina platensis* 7,5% terhadap tepung ikan pada pakan buatan mempengaruhi aktivitas fagositosis tertinggi, yaitu sebesar 46%.

Hasil pengamatan aktivitas fagositosis (AF) menunjukkan bahwa dosis terbaik pada perlakuan D aktivitas fagositosis paling tinggi, sedangkan aktivitas fagositosis paling rendah pada perlakuan A. Berdasarkan penelitian Tayag, *et al.* (2010), aktivitas fagositosis udang vaname yang diberi ekstrak *Spirulina platensis* meningkat signifikan setelah 24 jam. Menurut Putri, *et al.* (2013), lipopolisakarida pada dinding sel *Spirulina* sp. mampu menstimulir aktivitas respon pertahanan seluler sehingga meningkatkan kemampuan fagosit sel hemosit. Fagosit hemosit merupakan salah satu sistem imun non spesifik pada udang.

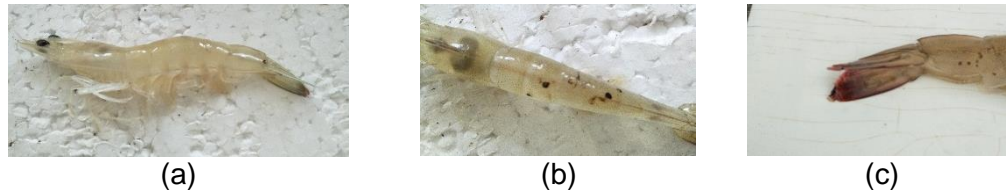
Fagositosis menjadi salah satu mekanisme pertahanan seluler utama pada krustasea. Hemosit sel semi granular adalah sel primer yang terlibat dalam fagositosis partikel asing pada udang (Braak, 2002).

Menurut Rohmin, *et al.* (2017), sistem kekebalan tubuh pada udang masih primitif dan tidak seperti pada ikan serta mamalia yang imunoglobulin, sehingga imunoglobulin pada udang digantikan dengan *Prophenoloxidase Activating Enzim* (PPA). PPA tersebut merupakan protein yang berlokasi di sel granular hemosit. PPA ini dapat diaktifkan oleh lipopolisakarida yang akan merangsang prophenoloksidase menjadi phenoloksidase dan menghasilkan semacam protein *opsonin factor* yang dapat menginduksi sel-sel hyalin untuk melakukan proses fagositosis. Protein membran imunogenik akan merangsang hemosit meningkatkan aktivitasnya untuk melakukan penjeratan dan fagositosis terhadap agen penyakit.

4.4 Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah udang vaname diinfeksi dengan *Vibrio harveyi* (Gambar 20). Perubahan warna tubuh udang vaname menjadi kemerahan setelah diinfeksi dengan *Vibrio harveyi*, hal tersebut sesuai dengan penelitian Bintari, *et al.* (2012), perubahan warna tubuh udang yang

terinfeksi vibriosis mengalami perubahan warna tubuh menjadi kemerahan, sedangkan tubuh udang yang sehat berwarna transparan.



Gambar 20. Perubahan morfologi udang vaname pasca infeksi *Vibrio harveyi*; (a) udang sehat; (b) melanosis; (c) telson memerah dan tubuh memerah

Hasil penelitian menunjukkan pasca diinfeksi *Vibrio harveyi*, udang vaname menunjukkan adanya perubahan warna tubuh menjadi kemerahan, respon terhadap pakan menurun, udang terlihat pasif, melanisasi pada segmen tubuh, dan telson memerah. Gejala klinis tersebut sesuai dengan penelitian Utami, *et al.* (2016), menunjukkan bahwa gejala klinis udang vaname yang diinfeksi *V. harveyi* mengalami perubahan tingkah laku berupa respon udang terhadap pakan menurun, udang berenang miring, udang terlihat pasif, berenang mendekati gelembung udara. Serta mengalami perubahan morfologi seperti nekrosis pada uropod, uropod dan telson memerah, dan melanisasi pada segmen tubuh.

Karapas yang menggelap dan bagian dalam jaringan biasanya terjadi pada udang. Sel darah secara bertahap berkumpul di daerah-daerah khususnya pada jaringan yang mengalami kerusakan (inflamasi) dan hal ini diikuti oleh deposisi pigmen (melanin). Agen infeksi, luka, atau racun dapat menyebabkan kerusakan dan merangsang suatu proses. Tubuh udang yang terinfeksi *Vibrio* menunjukkan perubahan warna jaringan tubuh. Fungsi pembekuan darah, perbaikan luka secara kritis, akan melambat atau hilang selama infeksi (Johnson, 1995).

Menurut Lee dan Söderhäll (2002), infeksi mikroba memicu kaskade proteolitik yang menyebabkan koagulasi darah dan melanisasi. Sistem pembekuan merupakan reaksi penting pada vertebrata dan invertebrata untuk mencegah kehilangan darah melalui luka. Sistem pembekuan melalui polimerisasi dari penggumpalan protein yang ditemukan dalam plasma dan dikatalisis oleh transglutaminase yang tergantung ion kalsium yang dilepaskan dari hemosit pada luka.

4.5 Kualitas Air

Nilai kualitas air selama masa pemeliharaan 30 hari dengan pakan uji dapat dilihat pada Lampiran 15 dan Tabel 8.

Tabel 8. Data nilai rerata pengamatan kualitas air media pemeliharaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) selama penelitian

Parameter	Perlakuan			
	A	B	C	D
Salinitas pagi (ppt)	28,3 ± 1,45	28,3 ± 1,45	28,3±1,45	28,3 ± 1,45
Salinitas sore (ppt)	28,3 ± 1,45	28,3 ± 1,45	28,3±1,45	28,3 ± 1,45
DO pagi (ppm)	5,07 ± 0,34	5,04 ± 0,33	5,11 ± 0,33	5,17 ± 0,31
DO sore (ppm)	4,97 ± 0,38	5,02 ± 0,42	5,05 ± 0,38	5,08 ± 0,38
Temperatur pagi (°C)	28,52 ± 0,54	28,55 ± 0,43	28,55 ± 0,50	28,59 ± 0,47
Temperatur sore (°C)	28,73 ± 0,61	28,75 ± 0,61	28,77 ± 0,64	28,72 ± 0,59
pH pagi	8,07 ± 0,16	8,12 ± 0,12	8,12 ± 0,14	8,07 ± 0,18
pH sore	7,99 ± 0,17	8,02 ± 0,18	7,97 ± 0,18	8,00 ± 0,18
Amonia hari ke 15 (ppm)	0,007 ± 0,002	0,007 ± 0,002	0,006 ± 0,002	0,003 ± 0,001
Amonia hari ke 30 (ppm)	0,0 ± 0,031	0,003 ± 0,033	0,044 ± 0,036	0,064 ± 0,025

Keterangan : Nilai dalam kolom yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P > 0,05)

Rerata salinitas air pada media pemeliharaan udang vaname pada penelitian ini sebesar 28,3 ppt, hal tersebut sesuai dengan penelitian Utami, *et al.*

(2016) bahwa kisaran salinitas media pemeliharaan udang vaname yaitu 15-30 ppt.

Kebutuhan oksigen udang vaname berada pada kisaran 4,6 – 5,5 ppm. Data Rerata DO pada media pemeliharaan selama 30 hari menunjukkan kondisi berada pada kisaran yang optimal untuk pemeliharaan udang vaname. Menurut Rohmin, *et al.* (2017), temperatur optimal udang vaname 27-32°C dan amonia kurang dari 0,1. Temperatur dan amonia media pemeliharaan selama penelitian menunjukkan kisaran optimal yang layak untuk udang vaname.

Berdasarkan penelitian Utami, *et al.* (2016), pH media pemeliharaan udang vaname 7,58 – 8,2 termasuk dalam kisaran optimal pemeliharaan udang vaname. Kisaran kualitas air pada media pemeliharaan udang vaname ini masih pada batas optimal yang dapat ditoleransi untuk kelangsungan hidup sehingga tidak berpengaruh signifikan terhadap udang vaname karena menurut Utami, *et al.* (2016) udang vaname memiliki toleransi yang sangat luas terhadap perubahan lingkungan yang memungkinkan untuk menjaga kestabilan fisiologi.

Kualitas air yang optimal selama penelitian juga mempengaruhi rendahnya pathogenitas agensia penyebab vibriosis. Pada kondisi inang yang sehat akan mempengaruhi kemampuan bakteri, lingkungan yang baik akan meningkatkan daya tahan organisme yang dipelihara. (Feliatra, *et al.*, 2014).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian Substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan pada pakan buatan yang diberikan pada udang vaname yakni :

- Substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan setelah 30 hari berpengaruh sangat nyata pada sel hyalin, sel granular, dan aktivitas fagositosis. Akan tetapi tidak berpengaruh nyata pada jumlah total hemosit dan sel granular. Hasil pasca infeksi 48 jam menunjukkan bahwa tidak berpengaruh nyata terhadap sel semi granular, berpengaruh nyata terhadap sel granular, serta berpengaruh sangat nyata terhadap sel hyalin dan jumlah total hemosit.
- Substitusi protein *Spirulina platensis* terhadap tepung ikan setelah 30 hari menunjukkan nilai rerata tertinggi setiap perlakuan pada dosis terbaik; 7,5% pada jumlah total hemosit $41,65 \times 10^6$ sel/ml, 7,5% pada sel granular 47%, dan 7,5% pada aktivitas fagositosis 46%. Hasil pasca infeksi 48 jam menunjukkan dosis terbaik 7,5% pada jumlah total hemosit $32,18 \times 10^6$ sel/ml dan 7,5% pada sel granular 67,67%.

5.2 Saran

Dari penelitian ini belum ditemukan dosis yang optimal untuk substitusi tepung ikan menggunakan *Spirulina platensis* pada udang vaname, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan dosis yang berbeda untuk mengetahui dosis optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 2005. Pakan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 132 hlm.
- Amlacher, E. 1970. Textbook of Fish Disease. TFH Publication. New York. 302 p.
- Amparyup, P., J. Sutthangkul, W. Charoensapsri and A. Tassanakajon. 2012. Pattern recognition protein binds to lipopolysaccharide and β 1,3 glucan and activates shrimp prophenoloxidase system. *The Journal of Biological Chemistry*. **287** (13): 10060-10069.
- Anderson, D. P. 1992. Immunostimulant, adjuvant and vaccine carrier in fish: applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*. 21: 281-307.
- Austin, B. and X. H. Zhang. 2006. *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *Letters in Applied Microbiology*. **43**: 119-124.
- Badrudin. 2014. *Better Management Practices* Seri Panduan Perikanan Skala Kecil Budidaya Udang Vannamei. WWF-Indonesia. 44 hlm.
- Bailey-Brock. J. H., and S. M. Moss. 1992. Penaeid Taxonomy, Biology and Zoogeography. In: A.W. Fast and L.J. Lester (Eds). *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, The Netherlands. 862 p.
- Bintari, N. W. D., R. Kawuri dan A. A. G. R. Dalem. 2012. Identifikasi bakteri vibrio penyebab vibriosis pada larva udang galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man). *Jurnal Biologi*. **20** (2): 53–63.
- Blaxhall, P. C., and K. W. Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish Biology*. **5**: 771-781.
- Bold, H. C. and M. J. Wynne. 1985. Introduction of the Algae. Practice Hall Inc. USA.
- Braak, K. V. D. 2002. Haemocytic defence in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Thesis. Wageningen Institute of Animal Sciences. Wageningen University. Netherlands.
- Buwono, I. D. 2000. Kebutuhan Asam Amino Esensial Dalam Ransum Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 56 hlm.
- Cheng, W., Chun-Hung Liu, Chiung-Hui Tsai dan Jiann-Chu Chen. 2005. Molecular cloning and characterisation of a pattern recognition molecule, lipopolysaccharide and β 1,3 glucan binding protein (LGBP) from the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*. **18**: 297-310.
- Christwardana, M., M. M. A. Nur dan Hadiyanto. 2013. *Spirulina platensis* : potensinya sebagai bahan pangan fungsional. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. **2** (1): 1-4.

- Ciferri, O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews*. **47** (4): 551-578.
- Darwatin, K., R. Sidik dan G. Mahasri. 2016. Efisiensi penggunaan imunostimulan dalam pakan terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya. (tidak diterbitkan) 18 hlm.
- Durai, P., M. Batool and S. Choi. 2015. Structure and effects of *Cyanobacterial* lipopolysaccharides. *Marine Drugs*. **13**: 4217-4230.
- Ekawati, A. W., H. Nursyam, E. Widjayanto dan Marsoedi. 2012. Diatomae *Chaetoceros ceratosporum* dalam formula pakan meningkatkan respon imun seluler udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). *Journal of Experimental Life Science*. **2** (1): 20-28.
- Fariyah, S., B. Yulianto dan E. Yudiati. 2014. Penentuan kandungan pigmen fikobiliprotein ekstrak *Spirulina platensis* dengan teknik ekstraksi berbeda dan uji toksisitas metode BSLT. *Journal of Marine Research*. **3** (2): 140-146.
- Fatimah, S., A. Indrawati dan A. M. Lusiastuti. 2015. Toksisitas dan imunogenitas produk ekstraseluler *Mycobacterium fortuitum* pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Riset Akuakultur*. **10** (2): 231-241.
- Feliatra, Zainuri dan D. Yuswaty. 2014. Patogenitas bakteri *Vibrio* sp. terhadap udang windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Sungkai*. **2** (1): 23-36.
- Gadelha, R. G. D. F., J. A. D. Silva, N. M. D Almeida and A.H.A.E. Silva. 2013. Effect of *Spirulina platensis* on the productive performance of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) shrimp. *International Journal of Agricultural Science Research*. **2** (9): 273-278.
- Gao, Y., X. Zhang, J. Wei, X. Sun, J. Yuan, F. Li and J. Xiang. 2015. Whole transcriptome analysis into molecular mechanisms for moulting in *Litopenaeus vannamei*. *Journal Pone*. **10** (12) : 1 – 26.
- Gimenez, A.V.F., J.L. Fenucci and A.M. Petriella. 2004. The effect of vitamin E on growth, survival and hepatopancreas structure of Argentine red shrimp *Pleoticus muelleri* Bate (Crustacea, Penaeidea). *Aquaculture Research*. **35** (12): 1172-1178.
- Haliman, R.W. dan Dian A. 2005. Udang vaname. Penebar Swadaya. Jakarta. 75 hlm.
- Hanafiah, K.A. 2008. Rancangan Percobaan Aplikasi: Aplikasi Kondisional Bidang Pertanian, Peternakan, Perikanan, Industri, dan Hayat. Penerbit PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 65 hlm.
- Hidayat, R. P. Suwarno dan G. Mahasri. 2017. Evaluasi pemberian crude protein *Zoothamnium penaei* terhadap laju pertumbuhan, respon imun dan kelulushidupan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. **19** (2): 1- 16.
- Indraswati, V. O., Supono dan A. Saefulloh. 2014. Suplementasi minyak ikan untuk peningkatan imunitas non spesifik udang vaname (*Litopenaeus*

vannamei). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. **3** (2) :273-278

- Jaime-Ceballos, B., H. Villarreal, T. Garcia, L. P. Jar and E. Afonso. 2005. Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth, survival and development in *Litopenaeus schimitti* shrimp larvae. *Revista de Investigaciones Marinas*. **26** (8): 235-241.
- Johanson, M. W. and K. Söderhäll. 1989. *Cellular Imunity in Crustacean and Pro System Parasitology Today*. **5** (6): 171-176.
- Johnson, S. K. 1995. Handbook of shrimp diseases. Texas A&M University:Texas. 28 p.
- Kabinawa, N. K. 2006. Spirulina ganggang penggempur aneka penyakit. Agro Media Pustaka. Depok. 92 hlm.
- Kaligis, E. 2015. Respons pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di media bersalinitas rendah dengan pemberian pakan protein dan kalsium berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **7** (1): 225-234.
- Kilawati, Y. dan Y. Maimunah. 2015. Kualitas lingkungan tambak intensif *Litopenaeus vannamei* dalam kaitannya dengan prevalensi penyakit *White Spot Syndrome Virus*. *Research Journal of Life Science*. **02** (01): 50 -59.
- Kordi, M. G. H. 2010. Budi Daya Perairan Buku Kedua. Citra Aditya Bakti. Bandung. 472 hlm.
- Kurniawan, K. dan E. Susianingsih. 2014. Mekanisme infeksi bakteri *Vibrio harveyi* terhadap gambaran histologi udang windu. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Maros: 985-993.
- Kurniawan, K., A. Tompo dan I. A. K. Kadriah. 2014. Uji patogenitas dan gambaran histologi hepatopankreas infeksi bakteri *Vibrio* patogen secara penyuntikan. Prosiding Seminar di Universitas Gajah Mada tanggal 30 Agustus 2014. BPPBAP : 417-424.
- Lee, S.Y. and K. Söderhäll. 2002. Early event in crustacean innate immunity. *Fish and Shellfish Immunology*. **12**: 421-437.
- Lee, Yuan-Kun, Pei-Fern Chew, Boong-Seng Soh and L. Y. Tham. 2003. Enhancing phagocytic activity of hemocytes and disease resistance in the prawn *Penaeus merguensis* by feeding *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*. **15**: 279-287.
- Lestari, D.P., A.W. Ekawati and Maftuch. 2014. Dried *Skeletonema costatum* in feed formulation for the growth of vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Experimental Life Sci*. **4** (2): 45-49.
- Lin, Y. C., C. M.Tayag, C. L. Huang, W. C. Tsui and J. C. Chen. 2010. White shrimp *Litopenaeus vannamei* that had received the hot water extract of *Spirulina platensis* showed earlier recovery in immunity and up regulation of gene expressions after pH stress. *Fish and Shellfish Immunology*. **29**: 1092-1098.

- Macias-Sancho, J., L. H. Poersch, W. Bauer, L. A. Romano, W. Wasielesky and M. B. Tesser. 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: effects on growth and immunological parameters. *Aquaculture*. **426**: 120-125.
- Maulana, F., H. Arfah, M. Istifarini dan M. Setiawati. 2017. Pemberian astaxanthin dan vitamin E dalam pakan terhadap perkembangan gonad calon induk udang vaname. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **16** (2): 124-135.
- Miranti, S. 2016. Pengendalian infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname dengan ekstrak kunyit sambiloto dalam pakan di karamba jaring apung Kepulauan Seribu. Tesis. Institut Pertanian Bogor. 52 hlm.
- Murtidjo, B. A. 2001. Pedoman Meramu Pakan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 111 hlm.
- Nazir, M. 2005. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia Cetakan 6. Bogor.
- Nugroho, E. D. dan D. A. Rahayu. 2017. Pengantar (Teori dan Aplikasi) Bioteknologi. Deepublish. Yogyakarta. 287 hlm.
- Pelizer, L. H., J. C. M. Carvalho dan S. Sato. 2002. *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivations conditions. *Electronic Journal of Biotechnology*. **5** (3): 1-10.
- Purnamasari, I., D. Purnama dan M. A. F. Utami. 2017. Pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak intensif. *Jurnal Enggano*. **2** (1): 58-67.
- Putri, F. M., Sarjito dan Suminto. 2013. Pengaruh penambahan *Spirulina* sp. dalam pakan buatan terhadap jumlah total hemosit dan aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (1): 102-112.
- Qiu, L., Meng-Meng Chen, Xiao-Yuan Wan, Chen Li, Qing-Li Zhang, Ruo-Yu Wang, Dong-Yuan Cheng, Xuan Dong, Bing Yang, Xiu-Hua Wang, Jian-Hai Xiang and Jie Huang. Characterization of a new member of Iridoviridae, Shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV), found in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Scientific Report*. **07** (11834): 1-13.
- Raco, J. R. 2010. Metode penelitian kualitatif jenis, karakteristik, dan keunggulannya. PT. Grasindo: Jakarta.
- Ramli. 2015. Menentukan dosis silase jeroan ikan hiu (*Rhizoprionodon* sp.) dalam formula pakan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmu Perikanan*. **6** (2): 80–90.
- Rohmin, M. F. T., G. Mahasri and F. A. Rantam. 2017. Rensponse analysis of urban vaname (*Litopenaeus vannamei*) which is exposed to crude protein Zoothamniumpenaei oral and maintained in ponds. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. **19** (2): 1-15.
- Sanchez, M., J. Bernal-Castillo, C. Roza, and I. Rodriguez. 2003. *Spirulina* (*Arthrospira*): an edible microorganism. A review. Ciudad Universitaria. Bogotá. 15 p.
- Söderhäll, K. and L. Cerenius. 1992. Crustacean immunity. *Annual Rev. Fish Diseases*. 3-23.

- Sukarman. 2011. Berbagai alternatif bahan baku lokal untuk pakan ikan. *Media Akuakultur*. **6** (1): 36-42.
- Sumeru, S.U. dan S. Anna. 1992. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kanisius. Yogyakarta. 97 hlm.
- Supriatna, I., Yustiati, A., dan Iskandar. 2014. Sekuen asam amino anti *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon*). *Bionatura Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*. **16** (1): 40-46.
- Susianingsih, E. dan M. Atmomarsono. 2014. Variasi warna bakteri *Vibrio* spp. pada budidaya udang vaname sistem tradisional plus dengan aplikasi pergiliran probiotik. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Maros, Sulawesi Selatan. 1019-1023.
- Suyanto, S.R. dan E.P. Takarina. 2009. Panduan budi daya udang windu. Penebar Swadaya. Jakarta. 213 hlm.
- Syah, R., Makmur dan M. Fahrur. 2017. Budidaya udang vaname dengan padat penebaran tinggi. *Media Akuakultur*. **12** (1): 19-26.
- Tayag, C. M., Yong-Chin Lin, Chang-Che Li, Chyng-Hwa Liou and Jiann-Chu Chen. 2010. Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*. **28**: 264-773.
- Tomaselli, L. 1997. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. In: A. Vonshak (Ed). *Spirulina Platensis* (*Arthrospira*) Physiology, Cell-Biology, and Biotechnology. Taylor and Francis Publisher. London. 227p.
- Tornabene, T. G., T. F. Bourne, S. Raziuddin and A. Ben-Amotz. 1985. Lipid and lipopolysaccharide constituents of cyanobacterium *Spirulina platensis* (Cyanophyceae, Nostocales). *Marine Ecology*. **22**: 121-125.
- Urbanczyk, H., Y. Ogura and T. Hayashi. 2013. Taxonomic revision of Harveyi clade bacteria (family *Vibrionaceae*) based on analysis of whole genome sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **63**: 2742-2751.
- Utami, W., Sarjito dan Desrina. 2016. Pengaruh salinitas terhadap efek infeksi *Vibrio harveyi* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5** (1): 82-90.
- Utomo, N. B. P., I. Mokoginta dan E. Suwendi. 2007. Protein sel tunggal sebagai substitusi tepung ikan dalam pakan juvenil ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Perikanan* **9** (2): 188-193.
- Widanarni, P. Widagdo dan D. Wahjuningrum. 2012. Aplikasi probiotik, prebiotik, dan sinbiotik melalui pakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **11** (1): 54-63.
- Widodo, A. F., B. Pantjara, N. B. Adhoyudanto dan Rachmansyah. 2011. Performansi fisiologis udang vaname *Litopenaeus vannamei* yang

diperlihara pada media air tawar dengan aplikasi kalium. *Jurnal Riset Akuakultur*. **6** (2): 225-241.

Wulansari, R., Y. Andriani dan K. Haetami. 2016. Penggunaan jenis binder terhadap kualitas fisik pakan. *Jurnal Perikanan Kelautan*. **7** (2): 140-149.

Wyban, J. A. and J. N. Sweeney. 1991. Intensive shrimp production technology: the Oceanic Institute shrimp manual. Argent Chemical Laborities. Washington. 158 p.

Zainuddin. 2012. Efek calsium fosfor dengan rasio berbeda terhadap retensi nutrien dan perubahan komposisi kimia tubuh juvenil udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. **4** (2): 208-216.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Pelaksanaan Penelitian

a. Pembuatan Pakan Uji



Disiapkan bahan-bahan pakan



Dihaluskan bahan pembuatan pakan



Ditimbang bahan sesuai dengan formula pakan uji



Dicampurkan bahan pakan hingga merata



Ditambahkan air panas hingga tercampur rata



Bahan pakan dicetak



Pakan dikeringkan



Pakan dikeringkan selama 24 jam dengan temperatur 60°C



Pakan di *crumble*



Ditambahkan minyak ikan



Disimpan pakan uji



Ditimbang pakan

Lanjutan (Lampiran 1)

b. Pelaksanaan Uji Biologis



Dibersihkan alat yang akan digunakan



Disterilisasi alat menggunakan kaporit



Udang diaklimatisasi



Ditimbang udang untuk mengetahui berat awal



Udang ditebar pada akuarium



Pergantian air dilakukan setiap pagi sebelum pemberian pakan

c. Jumlah Total Hemosit



Antikoagulan (sodium sitrat 10%)



Hemolim diambil menggunakan *syringe* 1 ml pada bagian kaki jalan kelima



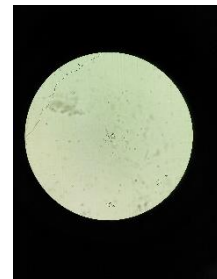
Dihomogenkan di dalam *microtube*



Disimpan di *coolbox*



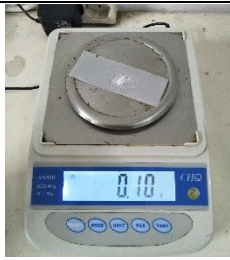
Hemolim dihitung menggunakan *haemocytometer*



Diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x

Lanjutan (Lampiran 1)

d. Total Hemosit Diferensial



Antikoagulan (sodium sitrat 10%)



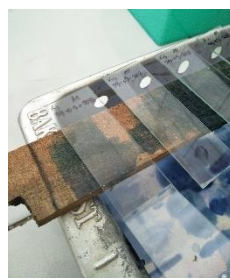
Hemolim diambil menggunakan *syringe* 1 ml pada bagian kaki jalan kelima



Dihomogenkan di dalam *microtube*



Disimpan di *coolbox*



Preparat diulas



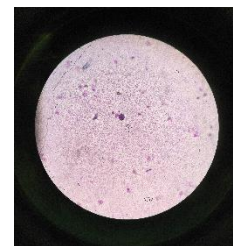
Difiksasi menggunakan etanol



Diwarnai dengan giemsa 10%



Preparat dikeringkan



Diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 600x

e. Aktivitas Fagositosis



Antikoagulan (sodium sitrat 10%)



Hemolim diambil menggunakan *syringe* 1 ml pada bagian kaki jalan kelima



Dihomogenkan di dalam *microtube*

Dilanjutkan.....

Lanjutan (Lampiran 1)



Disimpan di *coolbox*



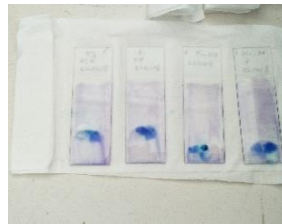
Bakteri dan hemolim diinkubasi, kemudian preparat diulas



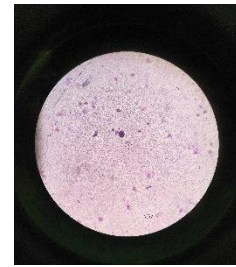
Difiksasi menggunakan etanol



Diwarnai dengan giemsa 10%



Preparat dikeringkan



Diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 600x

f. Penginfeksi Bakteri



Vibrio harveyi 10^5 CFU/ml



Disuntik 0,1 ml pada segmen 3 abdominal terakhir udang

g. Kualitas Air



DO meter



pH meter



Refraktometer

Lampiran 2. Komposisi Pakan Percobaan

Komposisi

Substitusi Protein Tepung *Spirulina platensis*

	terhadap tepung ikan			
	A (0%)	B (2,5%)	C (5%)	D (7,5%)
Kadar Kering (%) [*]	93,71	94,72	94,79	95,87
Kadar Air (%) [*]	6,29	5,28	5,21	4,13
Kadar Abu (%) [*]	13,15	13,16	14,25	13,71
Protein (%) [*]	35,80	35,60	35,45	35,22
Lemak (%) [*]	15,45	14,04	16,00	14,63
Serat Kasar (%) [*]	1,13	1,39	1,25	1,30
BETN (%) ^{**}	28,18	30,53	27,85	31,00
Karbohidrat (%) ^{**}	35,60	37,20	34,31	36,44
DE (kkal/g) ^{**}	3,95	3,91	3,91	3,97

Keterangan:

* : Hasil analisis Laboratorium Residu dan Lingkungan Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara

** : Hasil analisis perhitungan dengan rumus

BETN = 100 – (kadar protein + kadar lemak + kadar abu + kadar serat kasar)

Karbohidrat = 100 – (kadar protein + kadar lemak + kadar abu)

Energi = (4 x %Protein) + (9 x %Lemak) + (4 x %BETN) (Ramli, 2015)

Lampiran 3. Jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi *V. harveyi*

		THC (10^6 sel/ml)					
Perlakuan	Ulangan	Sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i> (hari)				Setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i> (jam)	
		0	10	20	30	24	48
A	1	34,95	34,35	40,20	26,85	8,40	11,25
	2	33,90	36,15	37,80	35,40	9,45	12,15
	3	33,75	40,05	36,30	38,55	8,93	10,50
Rerata		34,20	36,85	38,10	33,60	8,93	11,30
B	1	33,75	41,70	33,45	40,05	6,00	14,25
	2	33,30	32,85	32,10	37,05	8,85	16,65
	3	40,65	32,40	37,80	30,00	7,43	15,00
Rerata		35,90	35,65	34,45	35,70	7,43	15,30
C	1	33,75	33,60	36,30	33,75	12,75	18,75
	2	36,15	43,05	37,95	38,55	13,32	12,00
	3	35,55	33,45	34,05	40,35	13,88	15,38
Rerata		35,15	36,70	36,10	37,55	13,32	15,38
D	1	34,65	32,70	35,85	42,75	15,90	25,95
	2	35,70	32,70	32,55	40,80	15,00	38,40
	3	36,60	35,25	35,10	41,40	14,33	32,18
Rerata		35,65	33,55	34,50	41,65	15,08	32,18

Lampiran 4. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p>0,05$) jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi *V. harveyi*

Case Processing Summary

Perlakuan Pakan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
THC	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Tests of Normality

Perlakuan Pakan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
THC	Pakan Jenis A	.284	3	.	.934	3	.503
	Pakan Jenis B	.270	3	.	.949	3	.563
	Pakan Jenis C	.265	3	.	.953	3	.583
	Pakan Jenis D	.282	3	.	.936	3	.510

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

THC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.440	3	8	.139

Lampiran 5. Perhitungan data berdasarkan *Oneway* ANOVA jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi *V. harveyi*

ANOVA

THC

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>Between Groups</i>	<i>(Combined)</i>	105.337	3	35.112	1.850	.216
	<i>Linear Term Contrast</i>	47.526	1	47.526	2.504	.152
	<i>Deviation</i>	57.811	2	28.906	1.523	.275
	<i>Quadratic Contrast</i>	28.830	1	28.830	1.519	.253
	<i>Term Deviation</i>	28.982	1	28.982	1.527	.252
	<i>Cubic Term Contrast</i>	28.982	1	28.982	1.527	.252
<i>Within Groups</i>		151.815	8	18.977		
<i>Total</i>		257.152	11			

Lampiran 6. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p > 0,05$) jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi *V. harveyi*

Case Processing Summary

Perlakuan Pakan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
THC	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Tests of Normality

Perlakuan Pakan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
THC	Pakan Jenis A	.191	3	.	.997	3	.900
	Pakan Jenis B	.263	3	.	.955	3	.593
	Pakan Jenis C	.175	3	.	1.000	3	.998
	Pakan Jenis D	.175	3	.	1.000	3	.999

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

THC					
Levene Statistic		df1	df2	Sig.	
1.850		3	8	.216	

Lampiran 7. Perhitungan data berdasarkan *Oneway* ANOVA jumlah total hemosit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi *V. harveyi*

ANOVA

THC

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)	776.642	3	258.881	19.788	.000
	Linear Term Contrast	589.819	1	589.819	45.083	.000
	Deviation	186.823	2	93.411	7.140	.017
	Quadratic Term Contrast	122.880	1	122.880	9.392	.015
	Deviation	63.943	1	63.943	4.888	.058
	Cubic Term Contrast	63.943	1	63.943	4.888	.058
Within Groups		104.663	8	13.083		
Total		881.304	11			

Homogeneous Subsets

THC

Perlakuan Pakan		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	Pakan Jenis A	3	11.3000	
	Pakan Jenis B	3	15.3000	
	Pakan Jenis C	3	15.3767	
	Pakan Jenis D	3		32.1767
	Sig.		.222	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: THC

(I) Perlakuan Pakan		(J) Perlakuan Pakan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	-4.00000	2.95328	.213	-10.8103	2.8103
		Pakan Jenis C	-4.07667	2.95328	.205	-10.8869	2.7336

	Pakan Jenis D	-20.87667*	2.95328	.000	-27.6869	-14.0664
Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	4.00000	2.95328	.213	-2.8103	10.8103
	Pakan Jenis C	-.07667	2.95328	.980	-6.8869	6.7336
	Pakan Jenis D	-16.87667*	2.95328	.000	-23.6869	-10.0664
Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	4.07667	2.95328	.205	-2.7336	10.8869
	Pakan Jenis B	.07667	2.95328	.980	-6.7336	6.8869
	Pakan Jenis D	-16.80000*	2.95328	.000	-23.6103	-9.9897
Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	20.87667*	2.95328	.000	14.0664	27.6869
	Pakan Jenis B	16.87667*	2.95328	.000	10.0664	23.6869
	Pakan Jenis C	16.80000*	2.95328	.000	9.9897	23.6103

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.818 ^a	.669	.636	5.39894

a. Predictors: (Constant), Perlakuan Pakan

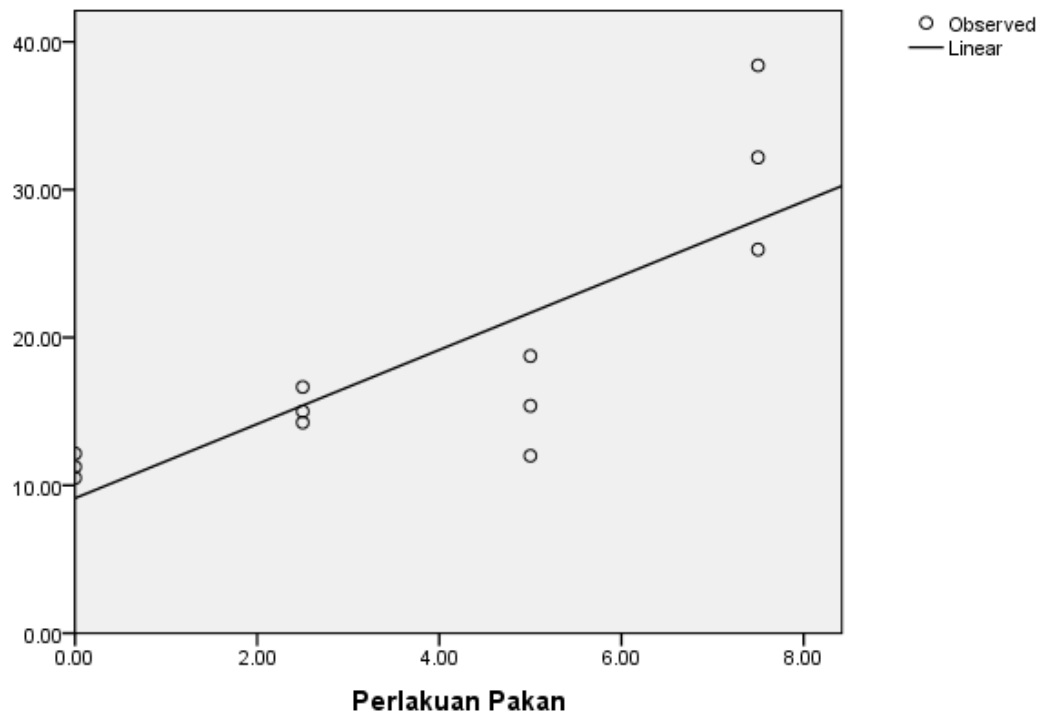
b. Dependent Variable: THC

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	9.132	2.608		3.502	.006
	Perlakuan Pakan	2.508	.558	.818	4.498	.001

a. Dependent Variable: THC

THC



Lampiran 8. Total hemosit diferensial udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum dan sesudah diinfeksi *V. harveyi*

Jenis Sel Hemosit	Perlakuan	DHC (%)					
		Sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i> (hari)				Setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i> (jam)	
		0	10	20	30	24	48
Hyalin	A1	50,00	48,00	29,00	55,00	34,00	32,00
	A2	60,00	46,00	27,00	54,00	33,00	28,00
	A3	58,00	44,00	40,00	53,00	35,00	27,00
	Rerata (A)	56,00	46,00	32,00	54,00	34,00	29,00
	B1	53,00	66,00	25,00	52,00	28,00	28,00
	B2	65,00	46,00	26,00	54,00	27,00	26,00
	B3	50,00	58,00	28,00	53,00	25,00	27,00
	Rerata (B)	56,00	56,67	26,33	53,00	26,67	27,00
	C1	64,00	69,00	41,00	53,00	16,00	23,00
	C2	48,00	66,00	27,00	57,00	18,00	27,00
	C3	63,00	64,00	21,00	47,00	17,00	26,00
	Rerata (C)	58,33	66,33	29,67	52,00	17,00	25,33
	D1	67,00	70,00	20,00	40,00	13,00	20,00
	D2	54,00	64,00	27,00	41,00	18,00	19,00
	D3	60,00	66,00	18,00	42,00	16,00	18,00
	Rerata (D)	60,33	66,67	21,67	41,00	15,67	19,00
Semi Granular	A1	32,00	29,00	23,00	17,00	12,00	12,00
	A2	22,00	34,00	42,00	15,00	11,00	14,00
	A3	26,00	20,00	32,00	14,00	10,00	11,00
	Rerata (A)	26,67	27,67	32,33	15,33	11,00	12,33
	B1	20,00	6,00	39,00	12,00	12,00	13,00
	B2	11,00	26,00	36,00	14,00	11,00	14,00
	B3	22,00	16,00	38,00	13,00	14,00	11,00

Dilanjutkan

Lanjutan (Lampiran 8)

Jenis Sel Hemosit	Perlakuan	Sebelum diinfeksi <i>V. harveyi</i> (hari)				Setelah diinfeksi <i>V. harveyi</i> (jam)	
		0	10	20	30	24	48
Semi Granular	Rerata (B)	17,67	16,00	37,67	13,00	12,33	12,67
	C1	16,00	10,00	22,00	14,00	15,00	13,00
	C2	20,00	16,00	40,00	10,00	12,00	11,00
	C3	15,00	16,00	44,00	13,00	14,00	15,00
	Rerata (C)	17,00	14,00	35,33	12,33	13,67	13,00
	D1	11,00	10,00	42,00	13,00	13,00	18,00
	D2	22,00	12,00	41,00	11,00	16,00	10,00
	D3	14,00	14,00	46,00	12,00	14,00	12,00
	Rerata (D)	15,67	12,00	43,00	12,00	14,33	13,33
Granular	A1	18,00	23,00	48,00	28,00	54,00	56,00
	A2	18,00	20,00	31,00	31,00	56,00	58,00
	A3	16,00	36,00	28,00	33,00	55,00	62,00
	Rerata (A)	17,33	26,33	35,67	30,67	55,00	58,67
	B1	27,00	28,00	36,00	36,00	60,00	59,00
	B2	24,00	28,00	38,00	32,00	62,00	60,00
	B3	28,00	26,00	34,00	34,00	61,00	62,00
	Rerata (B)	26,33	27,33	36,00	34,00	61,00	60,33
	C1	20,00	21,00	37,00	34,00	69,00	64,00
	C2	32,00	18,00	33,00	33,00	70,00	62,00
	C3	22,00	20,00	35,00	40,00	71,00	59,00
	Rerata (C)	24,67	19,67	35,00	35,67	70,00	61,67
	D1	22,00	20,00	38,00	47,00	74,00	62,00
	D2	24,00	24,00	32,00	48,00	72,00	71,00
	D3	26,00	20,00	36,00	46,00	70,00	70,00
	Rerata (D)	24,00	21,33	35,33	47,00	72,00	67,67

Lampiran 9. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p > 0,05$) total hemosit diferensial udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi *V. harveyi*

Case Processing Summary

Perlakuan Pakan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
DHC Sel Hyalin	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
DHC Sel Semi Granular	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
DHC Sel Granular	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Tests of Normality

Perlakuan Pakan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DHC Sel Hyalin	Pakan Jenis A	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis B	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis C	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis D	.175	3	.	1.000	3	1.000
DHC Sel Semi Granular	Pakan Jenis A	.253	3	.	.964	3	.637
	Pakan Jenis B	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis C	.292	3	.	.923	3	.463
	Pakan Jenis D	.175	3	.	1.000	3	1.000
DHC Sel Granular	Pakan Jenis A	.219	3	.	.987	3	.780
	Pakan Jenis B	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis C	.337	3	.	.855	3	.253
	Pakan Jenis D	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

	<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
DHC Sel Hyalin	2.286	3	8	.156
DHC Sel Semi Granular	1.173	3	8	.379
DHC Sel Granular	2.063	3	8	.184

Lampiran 10. Perhitungan data berdasarkan *Oneway ANOVA* total hemosit diferensial udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji sebelum diinfeksi *V. harveyi*

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
DHC Sel Hyalin	Between Groups	(Combined)		330.000	3	110.000	15.714	.001
		Linear Term	Contrast	240.000	1	240.000	34.286	.000
			Deviation	90.000	2	45.000	6.429	.022
		Quadratic Term	Contrast	75.000	1	75.000	10.714	.011
			Deviation	15.000	1	15.000	2.143	.181
		Cubic Term	Contrast	15.000	1	15.000	2.143	.181
	Within Groups			56.000	8	7.000		
	Total			386.000	11			
DHC Sel Semi Granular	Between Groups	(Combined)		20.333	3	6.778	3.128	.088
		Linear Term	Contrast	17.067	1	17.067	7.877	.023
			Deviation	3.267	2	1.633	.754	.501
		Quadratic Term	Contrast	3.000	1	3.000	1.385	.273
			Deviation	.267	1	.267	.123	.735
		Cubic Term	Contrast	.267	1	.267	.123	.735
	Within Groups			17.333	8	2.167		
	Total			37.667	11			
DHC Sel Granular	Between Groups	(Combined)		452.333	3	150.778	23.498	.000
		Linear Term	Contrast	385.067	1	385.067	60.010	.000
			Deviation	67.267	2	33.633	5.242	.035
		Quadratic Term	Contrast	48.000	1	48.000	7.481	.026
			Deviation	19.267	1	19.267	3.003	.121
		Cubic Term	Contrast	19.267	1	19.267	3.003	.121
	Within Groups			51.333	8	6.417		
	Total			503.667	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Perlakuan Pakan	Perlakuan Pakan				Lower Bound	Upper Bound
DHC Sel Hyalin	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	1.00000	2.16025	.656	-3.9815	5.9815

Dilanjutkan....

Lanjutan (Lampiran 10)

<i>Dependent Variable</i>		(I) Perlakuan Pakan	(J) Perlakuan Pakan	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	Sig.	<i>95% Confidence Interval</i>	
							<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
DHC Sel Hyalin	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis C	2.00000	2.16025	.382	-2.9815	6.9815
			Pakan Jenis D	13.00000*	2.16025	.000	8.0185	17.9815
		Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	-1.00000	2.16025	.656	-5.9815	3.9815
			Pakan Jenis C	1.00000	2.16025	.656	-3.9815	5.9815
			Pakan Jenis D	12.00000*	2.16025	.001	7.0185	16.9815
		Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	-2.00000	2.16025	.382	-6.9815	2.9815
			Pakan Jenis B	-1.00000	2.16025	.656	-5.9815	3.9815
			Pakan Jenis D	11.00000*	2.16025	.001	6.0185	15.9815
		Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	-13.00000*	2.16025	.000	-17.9815	-8.0185
			Pakan Jenis B	-12.00000*	2.16025	.001	-16.9815	-7.0185
			Pakan Jenis C	-11.00000*	2.16025	.001	-15.9815	-6.0185
DHC Sel Semi Granular	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	2.33333	1.20185	.088	-.4381	5.1048
			Pakan Jenis C	3.00000*	1.20185	.037	.2285	5.7715
			Pakan Jenis D	3.33333*	1.20185	.024	.5619	6.1048
		Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	-2.33333	1.20185	.088	-5.1048	.4381
			Pakan Jenis C	.66667	1.20185	.594	-2.1048	3.4381
			Pakan Jenis D	1.00000	1.20185	.430	-1.7715	3.7715
		Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	-3.00000*	1.20185	.037	-5.7715	-.2285
			Pakan Jenis B	-.66667	1.20185	.594	-3.4381	2.1048
			Pakan Jenis D	.33333	1.20185	.789	-2.4381	3.1048

Dilanjutkan...

Lanjutan (Lampiran 10)

<i>Dependent Variable</i>		(I) Perlakuan Pakan	(J) Perlakuan Pakan	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	Sig.	<i>95% Confidence Interval</i>	
							<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
DHC Sel Semi Granular	LSD	Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	-3.33333 [*]	1.20185	.024	-6.1048	-.5619
			Pakan Jenis B	-1.00000	1.20185	.430	-3.7715	1.7715
			Pakan Jenis C	-.33333	1.20185	.789	-3.1048	2.4381
DHC Sel Granular	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	-3.33333	2.06828	.146	-8.1028	1.4361
			Pakan Jenis C	-5.00000 [*]	2.06828	.042	-9.7695	-.2305
			Pakan Jenis D	-16.33333 [*]	2.06828	.000	-21.1028	11.5639
		Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	3.33333	2.06828	.146	-1.4361	8.1028
			Pakan Jenis C	-1.66667	2.06828	.444	-6.4361	3.1028
			Pakan Jenis D	-13.00000 [*]	2.06828	.000	-17.7695	-8.2305
		Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	5.00000 [*]	2.06828	.042	.2305	9.7695
			Pakan Jenis B	1.66667	2.06828	.444	-3.1028	6.4361
			Pakan Jenis D	-11.33333 [*]	2.06828	.001	-16.1028	-6.5639
		Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	16.33333 [*]	2.06828	.000	11.5639	21.1028
			Pakan Jenis B	13.00000 [*]	2.06828	.000	8.2305	17.7695
			Pakan Jenis C	11.33333 [*]	2.06828	.001	6.5639	16.1028

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

DHC Sel Hyalin

			Subset for alpha = 0.05	
	Perlakuan Pakan	N	1	2
Duncan ^a	Pakan Jenis D	3	41.0000	
	Pakan Jenis C	3		52.0000
	Pakan Jenis B	3		53.0000
	Pakan Jenis A	3		54.0000
	Sig.		1.000	.400

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

DHC Sel Granular

			Subset for alpha = 0.05		
	Perlakuan Pakan	N	1	2	3
Duncan ^a	Pakan Jenis A	3	30.6667		
	Pakan Jenis B	3	34.0000	34.0000	
	Pakan Jenis C	3		35.6667	
	Pakan Jenis D	3			47.0000
	Sig.		.146	.444	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.789 ^a	.622	.584	3.82099

a. Predictors: (Constant), Perlakuan Pakan

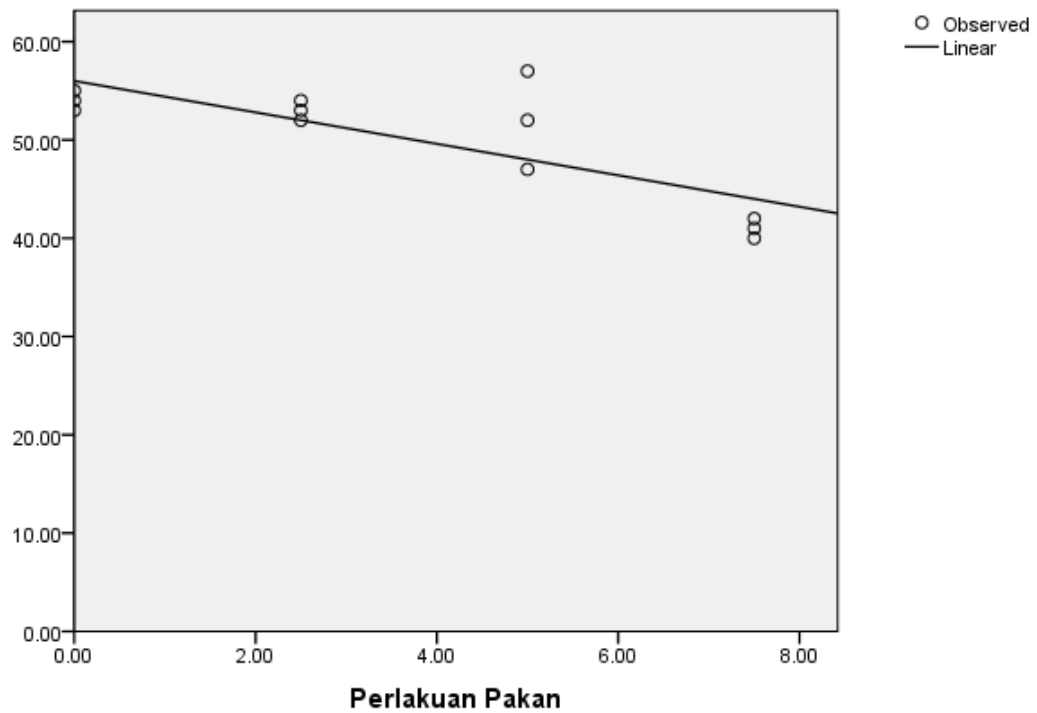
b. Dependent Variable: DHC Sel Hyalin

Coefficients

		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
Model		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	56.000	1.846		30.341	.000
	Perlakuan Pakan	-1.600	.395	-.789	-4.054	.002

a. Dependent Variable: DHC Sel Hyalin

DHC Sel Hyalin



Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.874 ^a	.765	.741	3.44384

a. Predictors: (Constant), Perlakuan Pakan

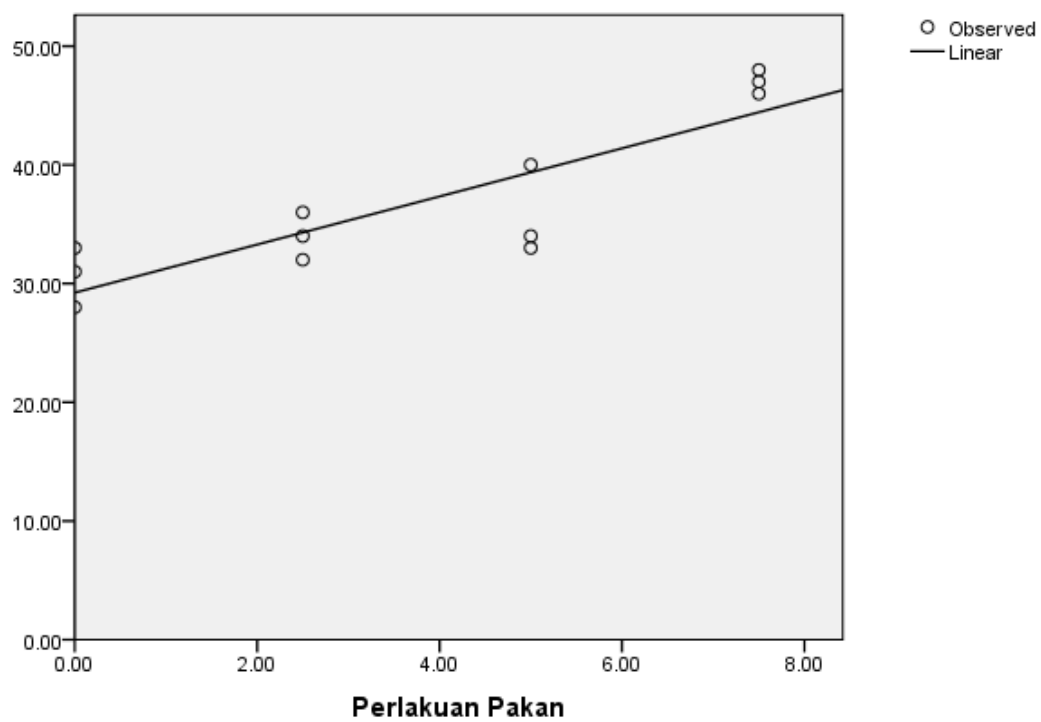
b. Dependent Variable: DHC Sel Granular

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	29.233	1.664		17.573	.000
	Perlakuan Pakan	2.027	.356	.874	5.698	.000

a. Dependent Variable: DHC Sel Granular

DHC Sel Granular



Lampiran 11. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p > 0,05$) total hemosit diferensial udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji dan 48 jam diinfeksi *V. harveyi*

Case Processing Summary

Perlakuan Pakan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
DHC Sel Hyalin	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
DHC Sel Semi Granular	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
DHC Sel Granular	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Tests of Normality

Perlakuan Pakan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
DHC Sel Hyalin	Pakan Jenis A	.314	3	.	.893	3	.363
	Pakan Jenis B	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis C	.292	3	.	.923	3	.463
	Pakan Jenis D	.175	3	.	1.000	3	1.000
DHC Sel Semi Granular	Pakan Jenis A	.253	3	.	.964	3	.637
	Pakan Jenis B	.253	3	.	.964	3	.637
	Pakan Jenis C	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Pakan Jenis D	.292	3	.	.923	3	.463
DHC Sel Granular	Pakan Jenis A	.253	3	.	.964	3	.637
	Pakan Jenis B	.253	3	.	.964	3	.637
	Pakan Jenis C	.219	3	.	.987	3	.780
	Pakan Jenis D	.349	3	.	.832	3	.194

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

	<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
DHC Sel Hyalin	2.250	3	8	.160
DHC Sel Semi Granular	2.203	3	8	.165
DHC Sel Granular	2.225	3	8	.163

Lampiran 12. Perhitungan data berdasarkan *Oneway* ANOVA total hemosit diferensial udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji dan diinfeksi *V. harveyi*

ANOVA

				Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
DHC Sel Hyalin	Between Groups	(Combined)		168.250	3	56.083	16.825	.001
		Linear Term	Contrast	150.417	1	150.417	45.125	.000
			Deviation	17.833	2	8.917	6.429	.129
		Quadratic Term	Contrast	14.083	1	14.083	4.225	.074
			Deviation	3.750	1	3.750	1.125	.320
		Cubic Term	Contrast	3.750	1	3.750	1.125	.320
		Within Groups		26.667	8	3.333		
		Total		194.917	11			
DHC Sel Semi Granular	Between Groups	(Combined)		1.667	3	.556	.085	.966
		Linear Term	Contrast	1.667	1	1.667	.256	.626
			Deviation	.000	2	.000	.000	1.000
		Quadratic Term	Contrast	.000	1	.000	.000	1.000
			Deviation	.000	1	.000	.000	1.000
		Cubic Term	Contrast	.000	1	.000	.000	1.000
		Within Groups		52.000	8	6.500		
		Total		53.667	11			
DHC Sel Granular	Between Groups	(Combined)		138.250	3	46.083	4.354	.043
		Linear Term	Contrast	120.417	1	120.417	11.378	.010
			Deviation	17.833	2	8.917	.843	.466
		Quadratic Term	Contrast	14.083	1	14.083	1.331	.282
			Deviation	3.750	1	3.750	.354	.568
		Cubic Term	Contrast	3.750	1	3.750	.354	.568
		Within Groups		84.667	8	10.583		
		Total		222.917	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable		(I) Perlakuan Pakan	(J) Perlakuan Pakan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
DHC Sel Hyalin	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	2.00000	1.49071	.217	-1.4376	5.4376

Dilanjutkan....

Lanjutan (Lampiran 12)

		(I) Perlakuan Pakan	(J) Perlakuan Pakan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
							Lower Bound	Upper Bound
DHC Sel Hyalin	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis C	3.66667 [*]	1.49071	.039	.2291	7.1043
			Pakan Jenis D	10.00000 [*]	1.49071	.000	6.5624	13.4376
		Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	-2.00000	1.49071	.217	-5.4376	1.4376
			Pakan Jenis C	1.66667	1.49071	.296	-1.7709	5.1043
			Pakan Jenis D	8.00000 [*]	1.49071	.001	4.5624	11.4376
		Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	-3.66667 [*]	1.49071	.039	-7.1043	-.2291
			Pakan Jenis B	-1.66667	1.49071	.296	-5.1043	1.7709
			Pakan Jenis D	6.33333 [*]	1.49071	.003	2.8957	9.7709
		Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	-10.00000 [*]	1.49071	.000	-13.4376	-6.5624
			Pakan Jenis B	-8.00000 [*]	1.49071	.001	-11.4376	-4.5624
			Pakan Jenis C	-6.33333 [*]	1.49071	.003	-9.7709	-2.8957
DHC Sel Semi Granular	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	-.33333	2.08167	.877	-5.1337	4.4670
			Pakan Jenis C	-.66667	2.08167	.757	-5.4670	4.1337
			Pakan Jenis D	-1.00000	2.08167	.644	-5.8003	3.8003
		Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	.33333	2.08167	.877	-4.4670	5.1337
			Pakan Jenis C	-.33333	2.08167	.877	-5.1337	4.4670
			Pakan Jenis D	-.66667	2.08167	.757	-5.4670	4.1337
		Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	.66667	2.08167	.757	-4.1337	5.4670
			Pakan Jenis B	.33333	2.08167	.877	-4.4670	5.1337
			Pakan Jenis D	-.33333	2.08167	.877	-5.1337	4.4670

Dilanjutkan...

Lanjutan (Lampiran 12)

<i>Dependent Variable</i>		(I) Perlakuan Pakan	(J) Perlakuan Pakan	<i>Mean Difference (I-J)</i>	<i>Std. Error</i>	Sig.	<i>95% Confidence Interval</i>	
							<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
DHC Sel Semi Granular	LSD	Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	1.00000	2.08167	.644	-3.8003	5.8003
			Pakan Jenis B	.66667	2.08167	.757	-4.1337	5.4670
			Pakan Jenis C	.33333	2.08167	.877	-4.4670	5.1337
DHC Sel Granular	LSD	Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	-1.66667	2.65623	.548	-7.7919	4.4586
			Pakan Jenis C	-3.00000	2.65623	.291	-9.1253	3.1253
			Pakan Jenis D	-9.00000*	2.65623	.010	-15.1253	-2.8747
		Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	1.66667	2.65623	.548	-4.4586	7.7919
			Pakan Jenis C	-1.33333	2.65623	.629	-7.4586	4.7919
			Pakan Jenis D	-7.33333*	2.65623	.025	-13.4586	-1.2081
		Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	3.00000	2.65623	.291	-3.1253	9.1253
			Pakan Jenis B	1.33333	2.65623	.629	-4.7919	7.4586
			Pakan Jenis D	-6.00000	2.65623	.054	-12.1253	.1253
		Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	9.00000*	2.65623	.010	2.8747	15.1253
			Pakan Jenis B	7.33333*	2.65623	.025	1.2081	13.4586
			Pakan Jenis C	6.00000	2.65623	.054	-.1253	12.1253

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

DHC Sel Hyalin

	Perlakuan Pakan	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	Pakan Jenis D	3	19.0000		
	Pakan Jenis C	3		25.3333	
	Pakan Jenis B	3		27.0000	27.0000
	Pakan Jenis A	3			29.0000
	Sig.		1.000	.296	.217

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

DHC Sel Granular

	Perlakuan Pakan	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	Pakan Jenis A	3	58.6667	
	Pakan Jenis B	3	60.3333	
	Pakan Jenis C	3	61.6667	61.6667
	Pakan Jenis D	3		67.6667
	Sig.		.310	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.878 ^a	.772	.749	2.10950

a. Predictors: (Constant), Perlakuan Pakan

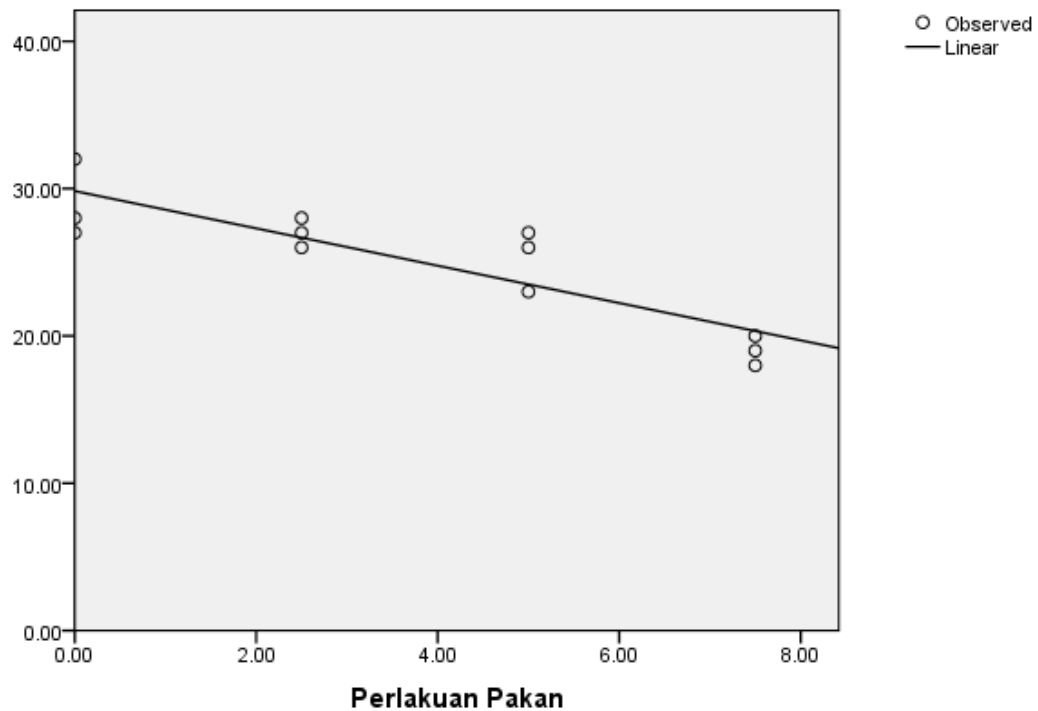
b. Dependent Variable: DHC Sel Hyalin

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	29.833	1.019		29.277	.000
	Perlakuan Pakan	-1.267	.218	-.878	-5.814	.000

a. Dependent Variable: DHC Sel Hyalin

DHC Sel Hyalin



Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.735 ^a	.540	.494	3.20156

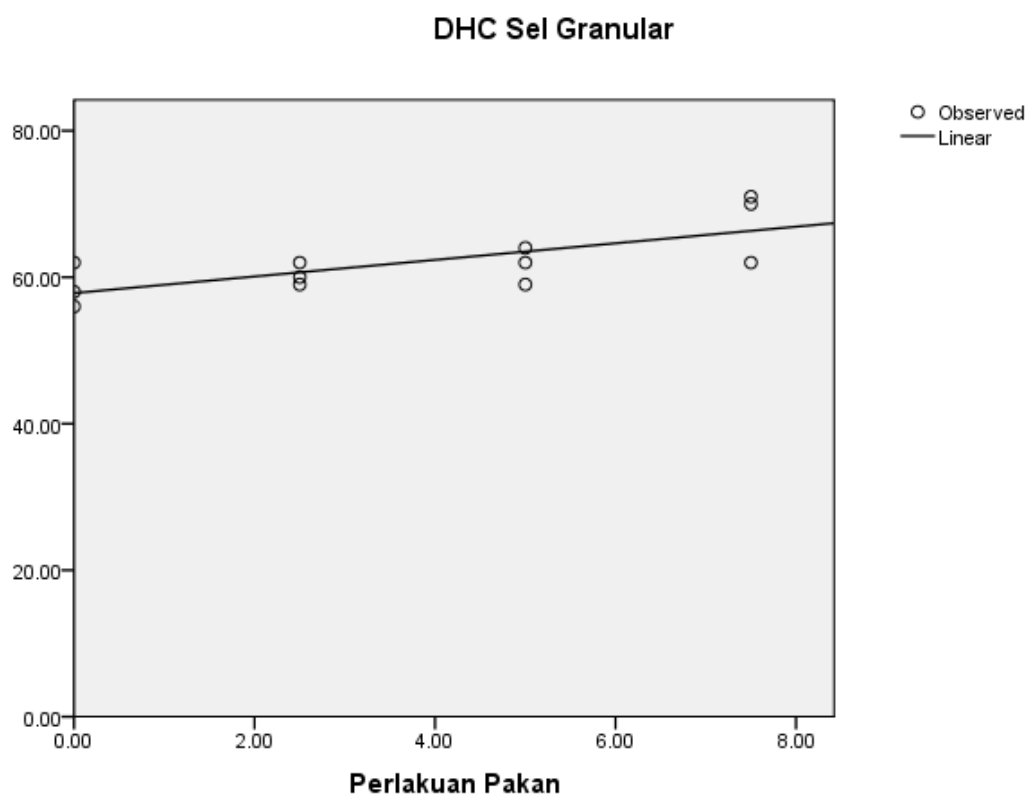
a. Predictors: (Constant), Perlakuan Pakan

b. Dependent Variable: DHC Sel Granular

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	57.833	1.547		37.396	.000
	Perlakuan Pakan	1.133	.331	.735	3.428	.006

a. Dependent Variable: DHC Sel Granular



Lampiran 13. Hasil uji normalitas dan homogenitas ($p > 0,05$) aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji selama 30 hari

Case Processing Summary

Perlakuan Pakan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
AF	Pakan Jenis A	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis B	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis C	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%
	Pakan Jenis D	3	100.0%	0	.0%	3	100.0%

Tests of Normality

Perlakuan Pakan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AF	Pakan Jenis A	.292	3	.	.923	3	.463
	Pakan Jenis B	.328	3	.	.871	3	.298
	Pakan Jenis C	.253	3	.	.964	3	.637
	Pakan Jenis D	.276	3	.	.942	3	.537

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

AF					
Levene Statistic		df1	df2	Sig.	
1.323		3	8	.333	

Lampiran 14. Perhitungan data berdasarkan *Oneway* ANOVA aktivitas fagositosis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pasca pemberian pakan uji selama 30 hari

ANOVA

AF

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<i>Between Groups</i>	<i>(Combined)</i>	256.250	3	85.417	11.389	.003
	<i>Linear Term Contrast</i>	252.150	1	252.150	33.620	.000
	<i>Deviation</i>	4.100	2	2.050	.273	.768
	<i>Quadratic Term Contrast</i>	4.083	1	4.083	.544	.482
	<i>Deviation</i>	.017	1	.017	.002	.964
	<i>Cubic Term Contrast</i>	.017	1	.017	.002	.964
<i>Within Groups</i>		60.000	8	7.500		
<i>Total</i>		316.250	11			

Homogeneous Subsets

Aktivitas Fagositosis

	Perlakuan Pakan	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	Pakan Jenis A	3	33.6667		
	Pakan Jenis B	3	36.6667	36.6667	
	Pakan Jenis C	3		40.6667	
	Pakan Jenis D	3			46.0000
	Sig.		.217	.111	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: AF

(I) Perlakuan Pakan	(J) Perlakuan Pakan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
LSD Pakan Jenis A	Pakan Jenis B	-3.00000	2.23607	.217	-8.1564	2.1564

	Pakan Jenis C	-7.00000*	2.23607	.014	-12.1564	-1.8436
	Pakan Jenis D	-12.33333*	2.23607	.001	-17.4897	-7.1770
Pakan Jenis B	Pakan Jenis A	3.00000	2.23607	.217	-2.1564	8.1564
	Pakan Jenis C	-4.00000	2.23607	.111	-9.1564	1.1564
	Pakan Jenis D	-9.33333*	2.23607	.003	-14.4897	-4.1770
Pakan Jenis C	Pakan Jenis A	7.00000*	2.23607	.014	1.8436	12.1564
	Pakan Jenis B	4.00000	2.23607	.111	-1.1564	9.1564
	Pakan Jenis D	-5.33333*	2.23607	.044	-10.4897	-.1770
Pakan Jenis D	Pakan Jenis A	12.33333*	2.23607	.001	7.1770	17.4897
	Pakan Jenis B	9.33333*	2.23607	.003	4.1770	14.4897
	Pakan Jenis C	5.33333*	2.23607	.044	.1770	10.4897

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.893 ^a	.797	.777	2.53180

a. Predictors: (Constant), Perlakuan Pakan

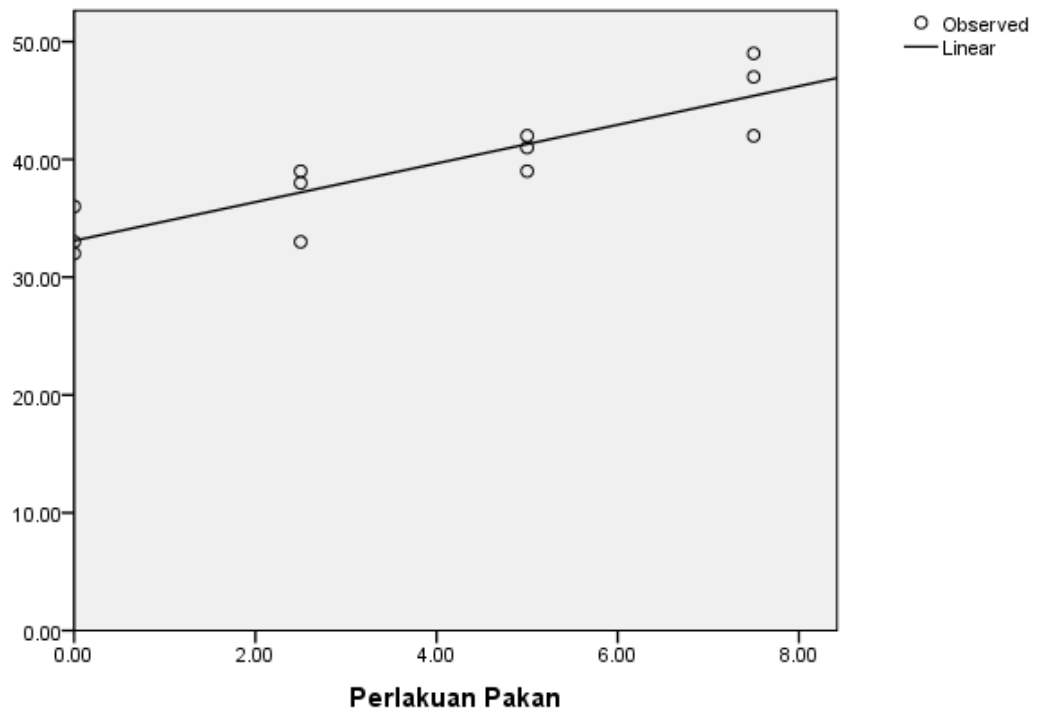
b. Dependent Variable: AF

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	33.100	1.223		27.065	.000
	Perlakuan Pakan	1.640	.261	.893	6.272	.000

a. Dependent Variable: AF

Aktivitas Fagositosis



Lampiran 15. Data nilai rerata pengamatan kualitas air media pemeliharaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) selama penelitian

a. Data pH

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
1	Pagi	7,87	7,74	7,94	8,15	8,21	8,23	8,11	8,28	7,88	8,35	8,05	8,32
	Sore	7,79	7,68	7,88	7,79	7,90	7,86	7,58	7,74	7,85	7,74	7,76	7,89
2	Pagi	8,15	8,02	7,91	8,15	8,05	8,09	8,13	8,11	8,08	7,98	8,07	8,10
	Sore	8,09	7,98	8,01	8,08	8,00	8,03	7,92	7,97	7,95	7,97	7,95	8,02
3	Pagi	8,10	8,05	8,11	8,11	8,16	8,15	8,09	8,01	8,08	8,06	8,02	8,12
	Sore	7,91	8,17	8,28	8,23	7,70	8,36	8,01	8,23	7,59	7,80	7,95	8,27
4	Pagi	8,18	7,72	7,64	8,00	7,92	8,11	8,24	8,35	8,19	8,28	7,94	7,90
	Sore	8,13	8,20	8,01	7,85	7,78	8,17	8,07	7,94	7,76	8,35	7,95	8,25
5	Pagi	7,75	8,10	7,97	7,98	8,24	7,76	8,01	8,23	7,61	7,88	7,83	7,93
	Sore	7,73	7,75	7,92	7,86	7,71	8,25	8,26	7,92	8,07	8,30	7,70	7,66
6	Pagi	8,17	8,12	8,10	8,13	8,09	8,05	8,20	8,06	8,14	8,05	8,15	8,07
	Sore	7,84	7,99	7,98	7,94	7,98	7,90	7,90	7,92	7,96	7,93	7,97	7,92
7	Pagi	8,08	8,10	8,10	8,11	8,12	8,10	8,11	8,17	8,12	8,15	8,12	8,13
	Sore	7,98	8,01	8,07	7,99	8,07	7,98	8,05	8,02	8,05	8,13	8,09	8,08
8	Pagi	8,12	8,16	8,20	8,19	8,17	8,18	8,17	8,18	8,21	8,22	8,20	8,20
	Sore	8,03	8,04	8,14	8,06	8,10	8,08	8,08	8,10	8,13	8,12	8,12	8,14
9	Pagi	8,04	8,15	8,19	8,15	8,14	8,16	8,13	8,15	8,17	8,19	8,17	8,19
	Sore	8,13	8,04	8,13	8,12	8,10	8,03	8,13	7,98	8,11	8,13	8,03	8,13
10	Pagi	8,09	8,00	8,12	8,10	8,03	8,11	8,07	8,11	8,11	8,12	8,12	8,10
	Sore	8,26	7,71	7,87	7,82	7,99	7,62	7,68	7,73	7,70	8,34	7,65	8,20
11	Pagi	7,65	8,33	8,07	8,27	7,87	8,34	7,86	7,98	8,17	8,20	7,99	7,75
	Sore	8,19	8,06	8,18	8,06	7,79	8,15	7,80	7,91	8,34	8,02	7,60	7,65
12	Pagi	8,27	7,73	7,82	8,04	8,20	8,06	7,61	8,01	8,37	7,59	8,37	7,78

Dilanjutkan....

Lanjutan pH (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
12	Sore	8,24	8,12	8,23	8,35	8,17	8,24	7,62	7,59	8,16	8,31	7,85	7,84
13	Pagi	8,17	8,14	8,19	8,19	8,18	8,17	8,19	8,17	8,16	8,19	8,14	8,12
	Sore	7,92	8,02	8,05	8,03	8,02	8,11	8,00	8,13	8,09	8,05	8,09	8,21
14	Pagi	8,08	8,08	8,23	8,18	8,21	8,24	8,20	8,20	8,23	8,22	8,17	8,15
	Sore	7,71	8,00	8,05	8,04	8,04	8,08	8,03	8,02	8,12	8,08	8,09	8,09
15	Pagi	8,18	8,14	8,16	8,15	8,15	8,15	8,17	8,15	8,21	8,19	8,14	8,17
	Sore	7,98	8,11	8,10	7,98	8,02	8,12	8,02	8,02	8,11	8,06	8,11	8,06
16	Pagi	8,11	8,14	8,00	7,79	8,18	7,81	8,14	8,37	8,27	7,70	7,88	7,62
	Sore	8,00	7,96	8,08	8,06	7,99	8,01	8,05	7,95	8,08	8,11	8,02	8,04
17	Pagi	8,12	8,12	8,19	8,19	8,12	8,10	8,12	8,12	8,12	8,18	8,13	8,11
	Sore	8,13	7,78	7,82	7,95	8,15	7,80	8,18	7,84	7,98	7,99	7,88	7,66
18	Pagi	8,05	7,92	8,03	7,69	8,22	8,02	8,07	8,20	7,91	7,69	7,76	7,90
	Sore	8,24	8,33	7,61	7,89	8,25	7,99	7,92	7,58	8,33	7,92	8,32	7,87
19	Pagi	7,78	7,98	7,86	8,16	8,33	7,84	8,20	8,34	7,68	8,06	7,66	8,36
	Sore	7,66	7,95	8,22	8,28	8,27	8,29	7,87	8,10	7,58	7,68	8,24	7,62
20	Pagi	8,10	8,07	8,09	8,09	8,03	8,08	8,06	8,07	8,12	8,12	8,06	8,07
	Sore	7,96	8,20	7,84	8,19	7,58	8,30	7,58	8,32	8,11	8,11	7,82	7,89
21	Pagi	8,05	8,08	8,10	8,15	8,09	8,07	8,07	8,16	8,13	8,11	8,17	8,06
	Sore	8,05	7,85	8,00	8,00	8,02	7,95	7,95	8,06	8,02	8,05	7,92	8,00
22	Pagi	8,16	8,14	8,14	8,19	8,12	8,16	8,15	8,16	8,12	8,16	8,12	8,11
	Sore	8,10	7,91	8,01	8,11	7,83	7,84	7,95	7,91	8,01	8,12	7,95	7,97
23	Pagi	8,20	8,00	8,18	8,29	8,25	8,11	8,20	8,17	8,15	8,08	8,12	8,11
	Sore	8,04	7,81	8,05	8,01	8,02	8,02	8,04	8,01	7,93	8,02	7,89	8,04
24	Pagi	8,21	8,27	8,20	8,25	8,25	8,37	8,17	8,26	8,19	8,20	8,34	8,22
	Sore	8,12	8,15	7,94	8,15	8,09	8,34	7,80	7,79	7,94	8,33	7,64	7,97

Dilanjutkan...

Lanjutan pH (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
25	Pagi	7,63	8,30	8,36	7,85	7,94	8,30	7,68	8,36	8,10	8,19	7,62	8,09
	Sore	7,74	8,00	7,75	8,15	7,58	7,96	8,30	7,98	7,83	8,07	8,32	8,03
26	Pagi	8,27	7,76	7,70	7,99	8,12	8,30	8,33	7,81	7,92	7,58	8,17	7,66
	Sore	8,33	7,79	7,90	8,25	7,79	7,85	8,18	7,98	7,84	8,34	7,79	7,91
27	Pagi	8,17	8,12	8,12	8,18	8,12	8,08	8,15	8,12	8,16	8,18	8,15	8,09
	Sore	8,03	7,94	7,94	8,04	8,03	7,84	7,91	7,90	8,01	8,05	8,03	7,97
28	Pagi	8,16	8,13	8,13	8,17	8,13	8,08	8,14	8,12	8,16	8,11	8,15	8,10
	Sore	8,26	8,18	7,61	8,23	7,74	8,34	7,77	7,91	8,09	7,74	8,10	7,79
29	Pagi	8,10	8,09	8,14	8,14	8,14	8,13	8,20	8,14	8,15	8,18	8,16	8,17
	Sore	7,97	7,88	7,89	7,98	7,95	7,97	7,89	7,97	7,93	7,99	8,02	7,97
30	Pagi	8,11	8,12	8,15	8,17	8,14	8,18	8,13	8,12	8,14	8,16	8,12	8,15
	Sore	8,03	7,70	7,75	8,35	8,04	8,20	8,07	8,18	8,30	8,18	8,17	7,98

b. Data DO

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
1	Pagi	5,46	4,66	5,21	4,90	4,24	4,81	4,87	5,61	4,48	5,33	5,36	4,59
	Sore	4,17	4,84	4,24	4,23	4,85	4,30	5,10	4,83	4,60	4,83	4,96	4,18
2	Pagi	5,00	4,20	4,43	4,98	4,91	4,77	4,92	4,73	4,94	4,91	4,80	4,60
	Sore	4,97	4,45	4,96	4,69	4,63	4,69	4,50	4,90	4,39	4,80	4,72	4,53
3	Pagi	4,94	5,00	5,03	4,92	5,12	5,10	4,80	4,76	5,01	4,82	4,84	5,11
	Sore	5,11	5,05	4,51	4,30	5,79	5,78	4,58	5,10	5,33	5,30	5,40	4,56
4	Pagi	5,15	4,73	4,81	5,54	4,50	4,35	4,49	4,58	4,41	5,60	4,93	4,79
	Sore	4,80	5,62	5,78	5,51	4,73	4,87	5,70	5,81	4,99	5,64	4,78	4,85

Dilanjutkan...

Lanjutan DO (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
5	Pagi	4,20	4,77	5,10	4,37	5,64	4,95	5,41	5,34	4,48	4,66	5,45	5,71
	Sore	5,65	5,48	5,80	4,52	4,26	5,30	4,28	5,27	5,81	5,80	4,20	5,50
6	Pagi	5,26	4,62	4,43	5,30	4,82	4,67	5,00	4,55	5,17	4,98	5,13	4,70
	Sore	5,16	4,96	5,00	5,14	5,04	5,06	4,81	4,83	5,01	4,35	5,06	4,46
7	Pagi	4,86	4,46	4,79	4,54	4,62	4,80	4,66	4,74	5,01	4,62	4,86	4,72
	Sore	4,39	4,36	4,72	4,58	4,62	4,38	4,62	4,48	4,59	4,72	4,59	4,78
8	Pagi	5,16	5,11	5,16	5,19	5,04	4,96	5,25	4,99	5,21	5,02	5,18	5,17
	Sore	4,33	4,30	4,78	4,62	4,28	4,57	4,32	4,65	4,35	4,67	4,57	4,82
9	Pagi	4,60	4,85	4,77	4,55	4,49	4,48	4,77	4,75	4,90	4,69	4,72	5,11
	Sore	4,91	4,70	4,84	4,51	4,62	4,70	4,86	4,71	4,80	4,90	4,40	5,00
10	Pagi	5,40	5,25	5,66	5,45	5,57	5,38	5,44	5,45	5,47	5,66	5,44	5,61
	Sore	4,27	4,97	4,77	5,47	5,34	5,71	4,56	5,59	5,43	4,77	5,61	4,80
11	Pagi	5,20	4,62	4,77	4,67	4,87	5,62	5,00	5,11	5,10	5,73	5,42	5,64
	Sore	4,53	4,91	5,75	5,04	5,77	5,32	4,95	4,88	5,80	5,75	4,87	5,07
12	Pagi	5,28	5,33	5,50	5,37	5,71	5,13	5,65	5,52	5,68	5,39	5,78	5,64
	Sore	5,05	5,74	5,46	5,66	5,59	5,39	4,96	5,57	5,32	5,64	5,22	5,66
13	Pagi	5,41	5,01	5,69	5,01	5,59	5,40	5,78	5,12	5,82	5,74	5,49	5,29
	Sore	4,68	4,77	4,76	4,74	4,68	4,85	5,26	4,78	5,22	4,92	5,05	5,14
14	Pagi	5,02	4,97	5,34	5,30	5,11	5,03	5,38	5,08	5,35	5,19	4,93	5,36
	Sore	4,80	4,93	5,15	5,03	5,03	5,04	5,14	4,99	5,03	5,24	5,31	5,34
15	Pagi	5,04	5,23	5,72	5,26	5,30	5,24	5,27	5,15	5,30	5,40	5,32	5,22
	Sore	4,95	4,87	4,95	4,50	5,19	5,64	5,10	4,67	5,22	5,20	4,83	5,30
16	Pagi	5,35	5,69	5,68	4,82	4,90	5,16	4,84	5,41	4,67	5,25	5,39	4,69
	Sore	5,25	4,76	4,85	5,00	4,84	4,92	5,14	4,67	5,00	4,97	5,17	5,38
17	Pagi	4,97	4,92	5,20	5,00	5,01	4,99	5,25	4,88	5,13	5,16	5,03	5,50

Dilanjutkan...

Lanjutan DO (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
17	Sore	4,79	4,86	5,29	5,51	4,73	5,63	5,58	5,68	5,41	5,39	5,64	5,10
18	Pagi	5,50	5,66	5,11	5,57	5,16	4,92	5,80	5,80	4,91	5,48	4,77	5,22
	Sore	5,47	4,68	5,61	5,25	5,37	4,75	5,09	5,76	5,54	5,19	5,40	5,80
19	Pagi	5,48	5,52	5,58	5,74	5,23	5,29	5,18	5,43	5,11	4,92	4,84	5,33
	Sore	5,58	4,76	5,10	5,45	4,93	5,67	5,70	4,80	5,07	5,14	5,73	5,67
20	Pagi	5,15	5,09	5,39	5,16	4,87	4,84	5,00	5,06	5,32	5,39	5,29	5,40
	Sore	5,62	4,88	5,09	4,69	5,38	5,19	4,94	5,50	4,90	5,20	5,78	5,47
21	Pagi	5,02	5,49	5,07	5,36	5,02	5,03	5,63	5,64	5,62	5,25	5,24	5,72
	Sore	4,98	4,58	4,72	4,95	4,89	4,44	4,62	4,89	4,89	4,95	4,94	4,83
22	Pagi	5,23	4,55	4,86	5,33	4,77	4,87	4,74	5,02	5,00	4,86	4,80	5,22
	Sore	5,04	4,60	4,81	5,06	4,87	4,69	4,75	4,92	4,90	4,77	5,03	5,18
23	Pagi	5,42	4,87	4,96	5,13	5,28	4,61	4,82	5,13	5,25	5,08	5,24	5,48
	Sore	5,08	4,46	4,86	5,18	4,95	4,60	5,09	4,98	4,93	5,10	4,94	4,99
24	Pagi	5,09	5,12	5,02	5,29	5,16	4,50	5,01	4,97	5,21	5,18	5,24	5,22
	Sore	5,18	4,70	5,61	4,69	4,91	4,69	5,82	4,79	5,51	5,67	4,99	4,70
25	Pagi	4,84	5,33	5,36	5,42	4,98	4,91	5,37	4,94	4,85	4,86	5,27	5,51
	Sore	5,04	4,84	5,31	5,17	5,19	5,49	5,52	5,53	4,76	5,65	5,55	5,10
26	Pagi	4,86	4,71	5,79	5,54	5,32	4,99	5,15	5,58	5,27	5,02	5,08	5,75
	Sore	5,18	5,29	4,73	4,90	5,73	5,13	4,71	4,73	5,26	5,37	5,12	4,88
27	Pagi	5,22	4,77	4,61	5,33	5,15	4,61	5,24	4,82	5,31	4,89	5,11	5,03
	Sore	4,89	4,89	4,73	4,93	4,81	4,83	4,86	5,15	4,92	5,03	4,94	4,86
28	Pagi	5,20	5,01	4,96	5,23	5,18	4,79	4,62	5,14	4,81	5,25	5,24	5,22
	Sore	5,02	5,32	4,77	5,70	5,23	5,76	5,20	4,69	5,40	5,19	4,74	4,93
29	Pagi	4,98	4,78	4,90	5,16	4,88	4,71	4,92	5,18	5,17	4,97	5,05	5,02
	Sore	5,24	4,85	5,07	5,04	5,26	4,84	4,98	5,24	5,18	5,24	5,21	4,97

Dilanjutkan ...

Lanjutan DO (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
30	Pagi	4,95	4,95	5,00	5,13	4,95	4,99	5,07	5,06	5,02	5,03	5,08	5,01
	Sore	5,39	4,73	5,60	5,18	5,80	4,90	4,91	5,38	5,19	5,35	4,84	4,78

c. Data Temperatur

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
1	Pagi	29,2	27,7	29,6	29,0	28,7	29,3	28,8	27,7	28,6	27,9	28,2	29,3
	Sore	28,3	28,4	28,6	28,3	28,8	28,6	28,3	28,5	28,4	28,6	28,4	28,6
2	Pagi	28,1	28,1	28,2	27,9	28,3	28,3	28,0	28,2	28,3	28,3	28,2	28,3
	Sore	28,1	28,2	28,4	28,0	28,4	28,4	28,1	28,4	28,4	28,4	28,3	28,4
3	Pagi	28,0	28,0	28,2	28,0	28,3	28,3	28,0	28,3	28,1	28,2	28,1	28,3
	Sore	29,6	29,8	28,2	28,0	28,2	27,7	29,6	29,4	28,5	29,2	28,5	28,2
4	Pagi	27,8	29,0	28,3	28,3	29,2	28,5	28,3	28,9	29,7	28,0	28,7	27,8
	Sore	29,1	27,7	28,8	27,7	28,4	27,8	29,8	28,9	28,5	27,8	28,4	29,3
5	Pagi	28,3	29,6	28,3	27,9	28,9	28,2	29,4	29,0	27,9	29,0	28,7	28,8
	Sore	29,5	27,7	27,8	29,2	28,5	29,4	29,4	28,6	28,6	29,7	27,9	28,1
6	Pagi	28,6	28,6	28,8	28,5	28,9	29,1	28,5	29,2	28,9	28,8	28,7	29,2
	Sore	29,2	29,2	29,4	29,1	29,5	29,6	29,1	29,6	29,3	29,5	29,3	29,7
7	Pagi	28,6	28,4	28,6	28,8	28,7	28,6	28,6	28,6	28,5	28,7	28,4	28,8
	Sore	29,2	29,1	29,3	29,3	29,4	29,3	29,1	29,3	29,2	29,3	29,1	29,4
8	Pagi	29,0	28,8	29,1	28,8	29,1	29,3	28,9	29,3	29,0	29,1	28,8	29,4
	Sore	29,3	29,2	29,5	29,2	29,5	29,6	29,2	29,6	29,3	29,5	29,2	29,6
9	Pagi	28,3	27,9	28,3	28,2	28,3	28,3	28,2	28,2	28,2	28,2	28,1	28,2
	Sore	28,0	27,8	28,0	28,0	28,0	28,0	28,0	28,0	28,0	28,0	27,9	28,0

Dilanjutkan....

Lanjutan Temperatur (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
10	Pagi	28,1	27,9	28,1	27,9	28,2	28,4	28,0	28,4	28,0	28,4	28,0	28,2
	Sore	28,1	29,5	29,2	27,8	28,4	27,8	29,4	29,7	28,1	29,2	28,9	28,4
11	Pagi	27,8	27,8	28,5	28,9	29,5	29,1	29,8	28,2	29,4	29,1	29,5	29,5
	Sore	28,7	28,5	29,5	27,9	29,5	28,2	29,7	28,2	27,7	29,4	27,9	27,7
12	Pagi	29,8	29,8	28,2	27,7	28,2	28,4	28,1	29,6	29,2	29,6	29,2	28,7
	Sore	28,8	27,9	29,4	29,0	29,7	27,9	27,7	29,6	28,3	29,8	28,8	27,9
13	Pagi	28,2	28,2	28,3	28,2	28,3	28,4	28,1	28,3	28,1	28,3	28,1	28,4
	Sore	28,6	28,6	28,7	28,6	28,8	28,7	28,5	28,7	28,6	28,7	28,5	28,8
14	Pagi	27,8	28,0	28,4	28,0	28,3	28,4	27,9	28,4	28,2	28,4	28,3	28,4
	Sore	27,7	27,7	28,0	27,7	27,9	28,1	27,7	28,0	27,9	27,9	27,9	28,0
15	Pagi	27,9	28,0	28,1	28,0	28,0	28,1	27,9	28,0	27,8	28,0	27,8	28,0
	Sore	28,7	28,9	28,9	28,7	28,9	28,9	28,6	28,9	28,7	28,8	28,7	28,9
16	Pagi	29,7	28,8	27,8	28,5	28,7	29,4	28,0	28,0	28,4	28,3	28,3	28,7
	Sore	29,2	29,5	29,4	29,3	29,5	29,5	29,2	29,5	29,4	29,5	29,5	29,5
17	Pagi	29,0	28,8	29,3	28,9	29,2	29,2	29,0	29,2	28,8	29,0	28,9	29,2
	Sore	28,5	27,9	29,6	29,5	29,4	28,2	27,7	29,4	29,7	28,1	29,5	28,7
18	Pagi	29,4	29,4	27,9	29,4	28,4	27,9	27,8	27,7	27,8	27,9	29,0	27,7
	Sore	29,6	28,7	28,6	29,8	27,9	28,9	29,7	29,0	28,7	29,3	27,9	28,5
19	Pagi	28,6	29,7	28,3	28,3	28,0	28,2	29,3	28,8	29,0	29,3	28,9	28,6
	Sore	28,0	28,3	27,8	29,1	29,4	28,7	27,7	28,2	29,8	28,7	29,8	28,7
20	Pagi	28,6	28,5	28,7	28,6	28,8	28,9	28,6	29,0	28,4	28,7	28,5	28,8
	Sore	28,8	29,7	29,3	27,9	29,3	27,7	27,9	28,5	28,7	28,2	28,5	28,7
21	Pagi	29,0	28,9	29,0	28,3	29,1	29,2	28,9	29,1	29,0	29,0	28,9	29,2
	Sore	29,5	29,6	29,7	29,1	29,8	29,7	29,4	29,7	29,6	29,7	29,5	29,8
22	Pagi	28,8	28,8	28,9	28,4	28,9	28,9	28,6	29,2	28,8	29,1	28,9	28,8

Dilanjutkan....

Lanjutan Temperatur (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
22	Sore	28,8	28,8	28,9	28,5	29,0	29,0	28,7	29,2	28,9	29,0	28,9	29,0
23	Pagi	28,3	28,3	28,3	28,8	28,4	28,4	28,5	28,3	28,3	28,3	28,3	28,4
	Sore	28,3	28,3	28,5	28,2	28,4	28,4	28,3	28,4	28,3	28,3	28,3	28,5
24	Pagi	28,7	28,2	28,2	28,2	28,4	28,4	28,5	28,4	28,3	28,5	28,2	28,4
	Sore	29,8	28,4	28,8	29,6	28,6	28,8	28,0	29,4	29,1	28,2	27,8	29,6
25	Pagi	28,2	29,6	29,5	29,6	29,4	28,5	29,3	28,6	29,4	27,9	28,5	29,6
	Sore	28,1	29,7	28,7	28,8	29,4	28,6	29,6	27,8	29,7	28,7	29,0	27,8
26	Pagi	27,9	28,5	27,8	28,2	29,1	28,5	28,7	28,8	29,2	29,3	29,1	29,1
	Sore	28,9	27,7	28,9	28,3	29,0	29,6	28,7	29,5	29,5	28,2	27,8	28,9
27	Pagi	28,3	28,3	28,6	28,3	28,4	28,6	28,5	28,6	28,2	28,2	28,5	28,6
	Sore	28,6	28,5	28,8	28,4	28,8	28,8	28,6	28,9	28,6	28,8	28,5	28,8
28	Pagi	28,3	28,1	28,5	28,1	28,5	28,5	28,5	28,5	28,3	28,5	28,1	28,5
	Sore	28,7	28,0	27,7	28,7	28,6	29,0	28,2	27,8	28,5	28,8	29,2	28,3
29	Pagi	28,1	28,1	28,2	28,1	28,2	28,4	28,1	28,3	28,1	28,2	28,1	28,2
	Sore	28,6	28,7	28,8	28,5	28,8	28,9	28,6	28,9	28,7	28,8	28,6	28,8
30	Pagi	29,2	28,5	28,7	28,3	28,5	28,8	29,3	28,5	28,6	29,2	28,6	29,3
	Sore	29,5	28,9	28,2	28,6	29,5	29,6	27,7	28,6	27,8	28,6	27,9	29,0

d. Data salinitas

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
1	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
2	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29

Dilanjutkan...

Lanjutan Salinitas (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
2	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
3	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
4	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
5	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
6	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
7	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
8	Pagi	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	Sore	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
9	Pagi	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	Sore	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
10	Pagi	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	Sore	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
11	Pagi	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	Sore	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
12	Pagi	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	Sore	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
13	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
14	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29

Dilanjutkan...

Lanjutan Salinitas (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
15	Pagi	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	Sore	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
16	Pagi	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
	Sore	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26
17	Pagi	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	Sore	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
18	Pagi	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	Sore	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
19	Pagi	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	Sore	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
20	Pagi	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
	Sore	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
21	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
22	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
23	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
24	Pagi	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
	Sore	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
25	Pagi	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	Sore	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
26	Pagi	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
	Sore	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
27	Pagi	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Dilanjutkan...

Lanjutan Salinitas (Lampiran 15)

Hari	Waktu	Perlakuan											
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3
27	Sore	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
28	Pagi	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
	Sore	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29	29
29	Pagi	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	Sore	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
30	Pagi	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	Sore	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30